ANNALES
DE MICROGRAPHIE

TOURS. — IMPRIMERIE DESLIS FRÈRES

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

SPÉCIALEMENT CONSACRÉES

A LA BACTÉRIOLOGIE

AUX PROTOPHYTES ET AUX PROTOZOAIRES

RÉDACTEUR PRINCIPAL

P. MIQUEL, Docteur en médecine, Docteur ès-Sciences
Chef du Service micrographique à l'Observatoire municipal de Montsouris

SECRÉTAIRES DE LA RÉDACTION

FABRE-DOMERGUE, Docteur ès-Sciences, Directeur adjoint du laboratoire de Zoologie maritime de Concarneau.

Ed. DE FREUDENREICH, Chef du Service bactériologique de la Station agricole de la Rütli (Berne).

TOME SECOND

1889-1890

PARIS

GEORGES CARRÉ, ÉDITEUR

58, RUE SAINT-ANDRÉ-DES-ARTS

ANNALES

DE MICROGRAPHIE

DE L'ANTAGONISME DES BACTÉRIES

PAR

Ed. de FREUDENREICH

Nous avons déjà, à l'occasion d'un mémoire de M. le Dr Sirotinin sur « l'action nocive des produits de culture sur le développement des bactéries et de l'hypothèse dite de la rétention » (Voir ces *Annales*, t. I, p. 86), ainsi qu'en analysant un travail de MM. Soyka et Bandler sur le développement des bactéries pathogènes soumises à l'influence de leurs produits de culture (Voir ces *Annales*, t. I, p. 350), entretenu les lecteurs des *Annales de Micrographie* de ce que, depuis les recherches de M. Garré, on a appelé l'antagonisme des bactéries. A cet exposé, nous voudrions aujourd'hui joindre le résultat de quelques nouvelles expériences qui complètent les recherches que nous avons nous-même publiées sur ce sujet (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. I, p. 200), et qui démontrent le peu de fondement d'une partie des conclusions auxquelles M. Sirotinin était arrivé dans son mémoire.

Il est nécessaire, toutefois, pour l'intelligence de ce qui va suivre, de résumer les résultats de notre premier travail, inconnu peut-être des lecteurs des *Annales de Micrographie*.

Il existe peu de faits importants en microbiologie sur lesquels M. Pasteur, le fondateur de cette science, n'ait pas déjà, dans le courant de ses nombreux travaux, attiré

l'attention. On semble souvent l'ignorer, et bien des fois des expérimentateurs novices nous entretiennent de prétendues découvertes, dont on trouverait les éléments dans l'une ou l'autre des publications de M. Pasteur, si l'on voulait bien se donner la peine de les y chercher. Dans la question qui nous occupe, c'est encore lui, qui, le premier, a constaté des effets d'antagonisme entre bactéries et l'action délétère des produits de la culture d'une espèce microbienne sur une autre. M. Pasteur, en effet, avait remarqué que la culture du microbe du choléra des poules devient promptement difficile et impossible dans un bouillon où ce microbe a pullulé, fait qui concorde, comme nous le verrons, parfaitement avec le résultat de nos propres expériences. Il avait également constaté un développement pénible de la bactéridie charbonneuse dans un bouillon de culture du microbe du choléra des poules, et, partant de ce fait, il était parvenu à conférer l'immunité charbonneuse à ces animaux en les vaccinant contre le choléra des poules (1), expérience qui constitue, croyons-nous, le premier essai de bactériothérapie. Ces faits semblaient presque oubliés lorsque M. Garré communiqua quelques intéressants résultats sur l'immunité conférée aux terrains de culture par l'inoculation antérieure d'un autre microbe et attira l'attention sur l'importance de ces faits pour l'explication du phénomène de l'immunité (2). Dans ces expériences, rappelons-le, M. Garré inoculait des tubes de gélatine nutritive avec différents microbes ; au bout de quelque temps il excisait la culture et semait d'autres microbes sur cette gélatine après l'avoir, le cas échéant, stérilisée à nouveau. Le mode de procéder ne pouvait naturellement pas s'appliquer aux espèces microbiennes qui liquéfient la gélatine. Celles-ci, M. Garré les cultivait dans du bouillon, stérilisait les cultures par filtration et rajoutait de la gélatine pour en faire un nouveau milieu solide qui servait alors aux essais de culture.

Nous avons trouvé, pour notre part, préférable de nous servir de cultures liquides. Notre procédé, dont nous tran-

---

(1) *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 1880, II, p. 215.
(2) *Correspondenzblatt für Schweizer Aerzte*, 1887, n° 13.

scrivons ici la description était le suivant : on ensemence les espèces microbiennes dont on veut étudier l'antagonisme à l'égard d'autres bactéries dans des ballons contenant 200 à 300 grammes de bouillon de bœuf bien neutralisé, salé à 1/2 p. 100. Ces cultures sont filtrées plus tard, après leur entier développement sur un filtre Chamberland et réparties dans de petits ballons de culture. Les bouillons ainsi obtenus sont d'une limpidité parfaite et permettent de constater le plus faible développement de bactéries. Seules, quelques espèces de bactéries donnent au bouillon une teinte assez prononcée ; ainsi, par exemple, le *Bacillus pyocyaneus* qui lui donne une couleur verdâtre. Après que l'on s'est assuré par un séjour suffisant à l'étuve que ces bouillons sont bien débarrassés des microbes à la culture desquels ils ont servi, on y sème alors, au moyen d'un fil de platine, à l'état de pureté, les différents microbes dont on veut étudier le développement dans ces milieux de culture altérés.

M. Sirotinin qui avait trouvé plus commode de stériliser ses cultures par la chaleur, et qui s'est exposé par cela à détruire les ptomaïnes qui s'y étaient formées, répudie l'emploi des filtres de terre poreuse, sous prétexte qu'ils retiennent au début de la filtration, les ptomaïnes en solution et que ce n'est qu'après s'en être saturés qu'ils les laissent passer. Ainsi, M. Sirotinin a remarqué que des cultures typhiques et même des solutions de strychnine, restaient sans effet quand on n'employait que les 15 à 20 premiers centimètres cubes du liquide filtré. Cette objection aurait quelque raison d'être si l'on se bornait à filtrer quelques centimètres cubes, mais ne s'applique pas à notre procédé, dont d'ailleurs, M. Sirotinin ne semble pas avoir eu connaissance. En effet, nous filtrons quelques centaines de grammes de bouillon, et ce n'est que quand la filtration est terminée que nous les répartissons dans les petits ballons de culture. Les ptomaïnes ont donc tout le temps de traverser le filtre et de se distribuer dans la masse totale du bouillon.

Le temps pendant lequel on abandonne les cultures avant de les filtrer, à l'action altérante des microbes, n'est pas indifférent. Les bouillons les plus actifs sont, nous pa-

raît-il, ceux de trois à six semaines. Les bouillons filtrés, au bout de huit jours, entravaient, en général, beaucoup moins le développement des microbes qui y étaient semés dans la suite. D'autre part, un bouillon de culture du *Bacillus prodigiosus* de deux mois, s'est montré moins actif qu'un bouillon de culture du même microbe, âgé de trois semaines. Nous avons donc adopté comme règle dans nos expériences la limite de trois à six semaines.

L'emploi du bouillon présente encore différents avantages ; ainsi les cultures peuvent être exposées à la température la plus favorable à leur plein développement, ce qui n'est pas le cas avec la gélatine. Ensuite, la diffusion des substances secrétées se fait plus facilement dans les liquides. Ainsi, dans un bouillon qui a servi de milieu de culture au microbe du choléra des poules, le bacille typhique ne croît que très mal ; il se développe bien, au contraire, sur de la gélatine ensemencée cinq semaines auparavant avec le même microbe du choléra des poules.

Les espèces microbiennes dont nous avons étudié le développement dans les bouillons altérés sont au nombre de 21 et pour la plupart bien connues. Une description de ces microorganismes serait donc superflue. Seul le bacille de la strumite découvert par le Dr Tavel est moins connu. C'est un petit bâtonnet, long de 1 à 1,5 μ et large de 0,4 à 0,5 μ. Il a été trouvé dans des cas de strumite et est pathogène pour les souris et les lapins. Ses cultures en piqûre dans la gélose donnent lieu à un développement de gaz.

Les bouillons de culture filtrés dans lesquels nous avons ensemencé ces bactéries provenaient dans notre première série d'expériences publiées précédemment, des 13 microbes suivants : *Staphylococcus pyogenes aureus* et *albus*, *Bacillus pyogenes fœtidus*, *Bacil. pyocyaneus* (bacille du pus bleu), bacilles du typhus, du charbon et du choléra des poules, pneumocoque de Friedlaender, *Bacterium phosphorescens*, spirilles du choléra asiatique, de Finkler, de Miller et de Deneke. Nous y ajoutons maintenant: le *Staphylococcus pyogenes citreus*, le bacille du lait bleu, le *M. prodigiosus*, le *Bacillus megaterium*, le *Micrococcus tetragenus*, le *Micrococcus roseus*, et un bacille de la pomme de terre (*Karttoffelbacillus des allemands*), soit

7 nouvelles espèces, ce qui porterait à 20 le nombre des bouillons altérés que nous avons étudiés. Les deux tableaux suivants résument les résultats. Les degrés divers de la croissance des bactéries ensemencées dans les milieux altérés sont indiqués par les signes suivants :

+. signifie une croissance normale ;
F. signifie une croissance faible ;
FF. signifie une croissance très faible ;
R. signifie un retard dans le début de la culture ;
O. signifie une croissance absolument nulle ;
— indique l'absence de développement.

Les deux tableaux ci-après ne nécessitent pas de longs commentaires. On voit qu'un certain nombre de microbes exercent à l'égard des autres une action bien réellement nocive. Ainsi le *Bacillus pyocyaneus*, le bacille du lait bleu, le *Bacterium phosphorescens*, le *Micrococcus prodigiosus*, les spirilles du choléra asiatique altèrent les bouillons de façon à les rendre peu favorables et même tout à fait impropres au développement d'autres bactéries. D'autres, au contraire, comme les bacilles typhiques, du charbon, du choléra des poules, les spirilles de Deneke, etc., semblent exercer une influence minime sur le pouvoir nutritif du bouillon dans lequel ils ont crû. Cependant, à l'égard de quelques microbes, leur antagonisme s'accuse nettement. Ainsi le *Bacillus pyog. fœtidus* entrave la croissance du spirille du choléra asiatique, du *M. roseus*, du *M. tetragenus*, etc., sans gêner pour cela la croissance de la plupart des autres bactéries. D'autre part, on voit qu'un certain nombre de microbes sont peu difficiles à contenter. La bactéridie charbonneuse, le *Bac. pyocyaneus*, le *M. prodigiosus*, et, en général, les saprophytes, s'accommodent assez bien de ces bouillons altérés. D'autres microbes, par exemple, celui de la morve, du choléra des poules, du typhus, le *M. tetragenus* sont plus délicats et résistent moins bien à une altération de leur milieu de culture. Quelques microbes ne croissent pas bien dans les milieux où ils ont eux-mêmes vécu (choléra des poules, bac. typhique, du choléra asiatique et du lait bleu, *M. roseus et prodigiosus*, pneumocoque de Friedlaender), fait qui n'est pas sans présenter quelque ressemblance avec l'immunité créée dans le corps

ENSEMENCEMENTS PRATIQUÉS AVEC LE:	BOUILLONS DE CULTURE DU:									
	STAPHYLOCOCCUS pyogenes aureus	STAPHYLOCOCCUS pyogenes albus	STAPHYLOCOCCUS pyogenes citreus	MICROCOCCUS tetragenus	MICROCOCCUS prodigiosus	MICROCOCCUS roseus	PNEUMOCOQUE de Friedlaender	BACILLE du lait bleu	BACILLE pyocyaneus	BACILLE typhique
Staphyl. pyog. aureus	+	F	+	+	0	F	F	0	F	+
» albus.	F	+	+	+	—	+	F	+	F	+
» citreus	+	+	+	R	0	+	+	+	F	+
Micrococ. tetragenus	R	F	+	+	F	+	+	0	F	+
» prodigiosus	+	+	+	+	FF[4]	+	+	0	F	+
» roseus . . .	+	+	+	+	F	F	+	+	F	+
Pneumocoque de Friedlaender. . . .	F	+	+	+	FF[5]	+	F	0	F	+
Bac. pyog. fœtidus. .	+	+	+	+	+	+	+	FF	F	+
» du lait bleu. . .	+	+	F	+	+	0	+	0	F	+
» pyocyaneus. . .	+	+	+	+	+	+	+	F	F	+
» typhique.	FF	0	F	+	FF[6]	+	FF	0	0	FF
» de la morve. . .	0	F	R[1]	+	F[7]	+	FF	0	0	+
» du charbon . . .	+	+	+	0[3]	+	+	+	F	+	+
» de la strumite. .	+	+	+	+	FF	+	+	F	F	+
» megaterium. . .	+	+	+	+	F	+	+	FF	F	+
» du choléra des poules	0	0	0[2]	+	0	0	0	0	0	F
Bact. phosphorescens	+	+	+	+	F	+	+	0	F	+
Spirille du choléra asiatique.	+	+	+	+	—	+	+	FF	0	+
Spirille de Finkler. .	+	+	+	+	FF	+	+	F	0	+
» de Miller. . .	+	+	+	+	FF	+	+	+	0	+
» de Deneke. .	0	F	F	+	0	+	F	0	0	+

(1) Ici le bacille de la morve n'a crû qu'après une seconde inoculation.

(2) Inoculé une seconde fois, le résultat est resté le même.

(3) L'expérience a été faite 3 fois avec le même résultat. Dans une quatrième, par contre, le charbon ensemencé le 13 août 1888, avait crû le 18, avec un retard semble-t-il.

(4) Le bouillon datait de 3 semaines. Avec du bouillon de 4 semaines la croissance est nulle.

(5) Le bouillon datait de 3 semaines. Avec du bouillon de 4 semaines la croissance a été nulle.

(6) Le bouillon datait de 3 semaines. Avec du bouillon de 4 semaines la croissance a été nulle.

(7) Le bouillon datait de 3 semaines. Avec du bouillon de 4 semaines la croissance a été nulle.

(8) Dans cette expérience, où le bouillon était âgé de 3 semaines, on avait omis de faire un ensemencement avec le bacille du choléra. Dans une autre expérience faite avec du bouillon de 4 semaines le microorganisme refusa de croître.

ENSEMENCEMENTS PRATIQUÉS AVEC LE :	BOUILLONS DE CULTURE DU :									
	BACILLE du charbon	BACILLE DU chol. des poules	BACILLUS pyogen. fœtidus	BACILLUS megaterium	BACTERIUM de la pom. de terre	BACTERIUM phosphorescens	SPIRILLE DU choléra asiatiq.	SPIRILLE de Finkler	SPIRILLE de Miller	SPIRILLE de Deneke
Staphyl. pyog. aureus	+	+	+	R	FF	F	F	R	+	R
» albus.	+	+	+	+	+	F	F	R	+	+
» citreus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Microc. tetragenus. . .	+	+	F	+	+[1]	FF	O	F	R	+
» prodigiosus. .	+	+	+	+	+	F	F	+	+	+
» roseus.	+	+	F	+	+	+	F	+	+	+
Pneumocoque de Friedlaender . . .	+	+	+	+	+	FF	F	+	+	+
Bac. pyog. fœtidus. .	+	+	+	+	+	F	F	+	+	+
» du lait bleu.. . .	+	+	+	R	F	F	+	+	+	+
» pyocyaneus . . .	+	+	+	+	+	+	+	F	+	+
» typhique.	R	FF	O	O	+	O	F	+	FF	F
» de la morve. . .	O	R	O	O	O	O	O	F	O	F
» du charbon. . .	+	+	+	+	+	+	R	+	+	+
» de la strumite. .	+	+	+	+	+	FF	F	F	+	+
» megaterium. . .	+	+	+	+	R[2]	+	F	+	+	+
» du choléra des poules.	+	FF	O	+	O	FF	O	F	F	R
Bact. phosphorescens	+	+	+	+	+	+	F	+	+	+
Spirille du choléra asiatique.	+	+	F	+	+	FF	FF	+	+	R
» de Finkler. .	+	+	+	+	+	F	F	+	+	+
» de Miller. . .	+	+	+	+	+	F	+	+	+	+
» de Deneke. .	+	+	O	+	FF	O	FF	+	+	+

vivant par une première atteinte de certaines maladies virulentes. Le fait n'est cependant pas général et l'on voit le bacille du charbon, maladie qui ne récidive pas, croître parfaitement dans son propre bouillon de culture. Il faut donc se garder de généraliser dans des matières si délicates et ne pas oublier qu'un microbe virulent peut former dans le corps vivant de tout autres produits que dans un simple bouillon de culture.

(1) Le premier ensemencement est resté stérile; le second seul donna une culture.

(2) Il est à noter que deux premiers ensemencements restèrent stériles; ce n'est qu'au troisième que le *Bac. megaterium* donna une culture.

Dans les expériences résumées plus haut les bouillons filtrés ont été employés tels quels, sans rien changer au degré d'acidité ou d'alcalescence qu'ils avaient acquis par les cultures précédentes. On sait, en effet, que certains microbes forment des acides dans les milieux dans lesquels ils vivent, tandis que d'autres, au contraire, les rendent plus ou moins alcalins, et nos lecteurs se rappellent sans doute, que M. Sirotinin était arrivé à la conclusion que ces modifications dans la réaction du milieu expliquent, dans la plus grande partie des cas, l'immunité apparente des terrains de culture. C'est, croyons-nous, trop simplifier la question, et nous avons cru devoir entreprendre une série d'expériences en vue de vérifier cette assertion, en employant simultanément avec les bouillons altérés et filtrés, les mêmes bouillons ramenés, avant la filtration, au degré de neutralisation exacte qu'ils possédaient avant toute culture. Ces essais ont porté sur le *Staphyl. pyog. citreus*, le bacille du choléra asiatique, celui de la pomme de terre, le *Bac. phosphorescens* et le *M. prodigiosus*. Nous les résumons dans le tableau suivant.

Ces tableaux montrent qu'il existe, en général, peu de différence entre les bouillons neutralisés et ceux qui ne l'ont pas été. On voit bien quelquefois la croissance être nulle ou très faible dans le bouillon original, tandis qu'elle n'est que faible ou seulement retardée dans le bouillon neutralisé, et dans de pareil cas, il est permis de supposer que l'excès d'alcalinité ou d'acidité du bouillon original a renforcé l'action nocive qu'il possède encore quand il est neutralisé. Mais ces légères différences ne permettent absolument pas de prétendre que cet excès d'alcalinité ou d'acidité soit tout, puisque l'on voit les bouillons neutralisés exercer une action nocive à peu près aussi forte. On voit d'ailleurs que la réaction des bouillons est rarement accusée de façon à rendre, de ce chef, la vie des bactéries impossible ; la plupart du temps, elle est alcaline, et beaucoup de microbes supportent très bien, s'ils ne la préfèrent même pas, une telle réaction. Il n'y a guère que quelques microbes, tels que le *Bac. acidi lactici* dont les cultures, d'après M. Sirotinin, ont une réaction, très acide, dont l'action nocive puisse s'expliquer uni-

ENSEMENCEMENTS PRATIQUÉS AVEC LE :	BOUILLONS DE CULTURE DU : STAPHYL. PYOG. CITREUS — assez alcalin	STAPHYL. PYOG. CITREUS — neutralisé	BACILLE DE LA POMME DE TERRE — assez alcalin	BACILLE DE LA POMME DE TERRE — neutralisé	SPIRILLE DU CHOLÉRA ASIATIQUE — non neutralisé Les cultures de choléra sont assez fortement alcalines	SPIRILLE DU CHOLÉRA ASIATIQUE — neutralisé et datant de plusieurs mois	BACTERIUM PHOSPHORESCENS — non neutralisé Les cultures du *bact. phosph.* sont faiblement alcalines	BACTERIUM PHOSPHORESCENS — neutralisé	M. PRODIGIOSUS — de 3 semaines très faiblement alcalin	M. PRODIGIOSUS — de 3 semaines neutralisé	M. PRODIGIOSUS — de 3 mois neutralisé
Staphyl. pyog. aureus.	+	+	FF	F	F	R	F	O	O	FF	F
» albus	+	+	+	+	F	+	F	—	—	—	—
» citreus.	+	+	+	R	+	R	+	O	O	F	+
Micrococcus tetragenus.. . . .	+	+	+	+	O	+	FF	+	F	+	F
» prodigiosus.	+	+	+	+	F	+	F	FF	FF	FF	+
» roseus..	+	+	+	+	F	R	+	R	F	+	F
Pneumocoque de Friedlaender. .	+	+	+	+	F	+	FF	FF	FF	F	F
Bacille pyog. fœtidus..	+	+	+	+	F	+	F	FF	+	FF	+
» du lait bleu.	F	F	F	R	+	+	F	F	+	+	+
» pyocyaneus.	+	+	+	+	+	+	+	F	+	+	+
» typhique..	F	+	+	+	F	F	O	F	FF	R	+
» de la morve.	R	+[1]	O	O	O	R	O	O	F	+	O
» du charbon.	+	+	+	+	R	+	+	+	+	+	+
» de la strumite..	+	+	+	+	F	+	FF	F	FF	F	+
» megaterium.	+	+	R	R	F	+	+	+	F	+	R
» du choléra des poules.. .	O	R	O	FF	O	O	FF	O	O	O	+
Bacterium phosphorescens. . . .	+	+	+	+	F	+	+	+	F	F	+
Spirille du choléra asiatique. . .	+	+	+	+	FF	+	FF	R	—	—	+
» de Finkler	+	+	+	+	F	+	F	F	FF	FF	+
» de Miller.	+	+	+	+	+	+	F	F	FF	FF	+
» de Deneke	F	+	FF	FF	FF	O	O	O	O	O	F

(1) N'a cru qu'après une seconde et abondante inoculation.

quement par le fait de cette réaction. M. Kitasato, du reste, dans un récent travail sur l'antagonisme entre les bacilles du choléra et d'autres bactéries, a remarqué que les bacilles cholériques se refusaient à croître, absolument comme dans nos expériences, dans des cultures stérilisées du bacille pyocyanique bien que leur réaction fût constamment faiblement alcaline. Cet expérimentateur a de même constaté que le bacille du choléra ne croît plus ou seulement très mal dans ses propres bouillons de culture. Plus ces derniers étaient âgés, plus ils lui ont paru être doués de propriétés nocives.

S'il est facile de constater que les bouillons dans lesquels ont vécu certains microbes constituent un mauvais terrain de culture pour d'autres bactéries, il est beaucoup moins aisé d'en donner l'explication. L'acidité ou l'alcalinité du milieu, nous l'avons vu, sont hors de cause dans la majorité des cas. Il ne reste plus guère que deux hypothèses, celle de la production de substances nuisibles dans les bouillons de culture et celle de l'épuisement du milieu, qui serait devenu trop pauvre pour nourrir les microbes implantés après une première culture.

La première hypothèse a déjà été soutenue par M. Garré : c'est aussi celle qui nous avait semblé la plus plausible ; cependant quelques expériences que nous avons fait en vue précisément de la vérifier, nous ont montré qu'elle ne suffit pas non plus pour donner une explication complète. Une culture pyocyanique de trois semaines fut filtrée puis évaporée dans le vide à une température ne dépassant pas 40°, de façon à ce qu'il ne restât qu'environ 1/10 de la culture filtrée. Cet extrait fut alors versé à la dose de 10, de 20 et de 100 gouttes dans des ballons de culture contenant 5 cmc. soit 100 gouttes de bouillon stérilisé, que l'on inocula ensuite avec les bacilles du typhus et du choléra. Les ballons ayant reçu 10 et 20 gouttes de l'extrait pyocyanique donnèrent dès le lendemain de belles cultures ; les ballons, par contre, contenant le bouillon et l'extrait à parties égales, c'est-à-dire en réalité 10 parties de culture pyocyanique pour une de bouillon, puisque l'extrait représentait dix fois son volume de culture ou bien restèrent stériles, c'étaient ceux ensemencés avec le bacille du choléra,

ou ne donnèrent qu'une très maigre culture (bacille typhique). Dans une autre expérience, du bouillon de culture du *Bac. megaterium* dans lequel le bacille typhique avait absolument refusé de croître, fut additionné d'une quantité égale et, une autre fois, d'une quantité double de bouillon, puis ensemencé avec le bacille du typhus. Celui-ci s'y développa alors parfaitement bien. Il semble résulter de ces expériences que la sécrétion, dans les bouillons de culture, de substances nuisibles à la vie des bactéries, ne jouerait pas un rôle unique dans l'interprétation de ces phénomènes, puisque mélangés à dose égale ou double de bouillon stérilisé, ces bouillons de culture ne retardent même pas le développement des bactéries implantées plus tard. La théorie d'un épuisement du milieu y trouverait, au contraire, un appui, puisque l'addition d'un peu de bouillon suffit pour faire récupérer au bouillon altéré ses facultés nutritives. D'autre part, étant donné le peu de matières nutritives dont certains microbes ont besoin pour prospérer, on en voit qui se multiplient rapidement même dans de l'eau pure ; il nous paraît difficile d'admettre qu'il y ait là un véritable épuisement des substances nutritives. Il se produirait plutôt, croyons-nous, une modification de nature chimique, les rendant inattaquables pour certaines bactéries. La première culture aurait non pas fait disparaître absolument la matière nutritive, mais seulement modifié sa structure chimique de façon à le rendre insensible à l'action d'autres bactéries.

On voit que le problème est loin d'être encore élucidé, et le mieux sera, pour le moment, de ne rien encore décider prématurément.

Quoiqu'il en soit de l'explication théorique des phénomènes d'antagonisme entre bactéries, nous avons cherché, en nous basant sur les faits constatés au cours de nos expériences, si l'on ne pourrait pas créer, chez l'animal, l'immunité à l'égard de certaines maladies par l'inoculation des bouillons de culture contraires aux bactéries pathogènes que nous voulions inoculer. Malheureusement nous n'avons eu à enregistrer de succès dans aucun cas. Nous avons employé dans ces expériences les bouillons de culture du bacille pyocyanique, du *Bacil. pyog. fœtidus*,

du bacille du choléra des poules, du bacille du lait bleu et du *Micrococcus prodigiosus*, qui tous s'étaient opposés à la culture du bacille du choléra des poules, et les avons inoculés à des doses variables (de 50 à 500 cmc.), en une fois ou en plusieurs fois, dans la veine de l'oreille de lapins qui étaient ensuite inoculés avec une culture du bacille du choléra des poules. Tous, sans exception, contractèrent le choléra des poules. Malgré ces insuccès nous ne voudrions cependant pas décourager d'autres expérimentateurs de continuer dans cette voie, car nos expériences, malgré leurs résultats constamment négatifs, ne sont pas encore assez variées ni assez nombreuses, pour ne pas permettre d'espérer qu'un résultat positif puisse être atteint en variant les conditions expérimentales ou en s'adressant à d'autres microbes.

ÉTUDE SUR LA FERMENTATION AMMONIACALE

ET SUR LES FERMENTS DE L'URÉE (*suite*) (1)

Par le Dr P. MIQUEL

---

§ III. — Description des espèces

Urobacillus Pasteurii *sive* **Bacillus ureæ** ρ

Morphologie. — L'*Urobacillus Pasteurii* se présente toujours sous la forme de bâtonnets dont la largeur peut atteindre 1,2 μ, et dont la longueur et l'aspect varient beaucoup, suivant les milieux où on l'ensemence.

Dans les urines artificielles chargées de 20 p. 1.000 d'urée, il apparaît en articles courts habituellement accouplés au nombre de 2 à 6. Dans les fermentations en marche, les éléments de ces chaînes sont réunis sous des angles divers, et les articles ainsi accolés se meuvent en tourbillonnant. Les articles isolés, possèdent les mouvements bien connus des bacilles vulgaires; les articles doubles, ceux des bacilles en voie de se scissiparisér. Quand le liquide devient très ammoniacal, l'espèce perd son mouvement. Si le liquide renferme de très fortes quantités d'urée, l'urobacille semble amaigri, plus translucide, son protoplasma est irrégulièrement condensé dans les diverses régions du bâtonnet, on le voit plus rarement en chaînes d'articles. Il est d'ailleurs si mal aisé de résumer en quelques mots les aspects variés qu'acquiert ce microbe dans les diverses cultures, que je préfère substituer ici à une description incomplète, quelques notes de laboratoire dictées au moment de l'examen microscopique.

---

(1) Voir tome Ier des *Annales de Micrographie*, pages 414, 470, 506 et 552.

Urine normale à 30° et en voie de fermentation. — Bacilles de largeur supérieure à 1 μ, de longueur variable, articles mobiles, germes brillants, chaînes rares.

Urine normale à 40°, complètement fermentée en 2 jours. — Bacilles tordus, de largeur supérieure à 1 μ, remplis de granulations protoplasmiques, articles généralement courts, en forme de boudins, accouplés le plus souvent 2 à 2. Bacilles pâles, mobilité douteuse.

Urine artificielle vieille de 24 heures, contenant 17 grammes de carbonate d'ammoniaque par litre. Fermentée à 30°. — Bacilles de 1 μ de large environ, très mobiles, mouvements vifs de tourbillonnement, articles souvent très longs, parfois scindés en petits boudins, agencés plus ou moins régulièrement; forme fer-à-cheval, carrée, héliçoïdale.

Urine artificielle chargée de 20 p. 1.000 d'urée, fermentation vieille de 2 jours, et effectuée à 40°. — Épaisseur des articles supérieure à 1 μ, forme tordue irrégulière, articles granulés intérieurement, accouplés par boudins de longueur très variable pour la même chaîne ; formes à renflements et à étranglements, chaînes moniliformes diffuses.

Urine artificielle chargée de 50 grammes d'urée par litre, complètement fermentée à 30° et vieille de 2 jours. — Bacilles généralement longs, mais d'épaisseur inférieure à 1 μ, maigres et de longueur très variable, quelques articles tordus. Chaînes moniliformes diffuses, segmentation non apparente, même pour les articles de 20 μ, qui semblent faits d'une seule pièce.

Urine artificielle chargée de 100 grammes d'urée, complètement fermentée en 48 heures. — Articles maigres, courts et longs, parfois filiformes, granulations protoplasmiques très difficiles à distinguer, immobilité absolue, espèce très rabougrie.

Urine artificielle à 20 grammes d'urée p. 1.000, fermentée depuis un an. — Dépôts abondants de cristaux, granulations nombreuses, colorables par l'eau iodée, pas de bacilles visibles; germes brillants circulaires.

Bouillon de peptone. Culture au début. — Épaisseur du bacille supérieure à 1 μ, articles courts, habituellement soudés en chaîne de 2 à 6 et 8 bâtonnets, intérieur des cellules granuleux, mobilité très faible.

Bouillon de peptone. Culture vieille de six mois. — Forme bacillaire presque entièrement disparue, granulations isolées et en tas, le diamètre des granulations brillantes atteint à peine 0,5 μ.

Gélatine chargée de 20 grammes d'urée. Culture vieille de 3 jours. — Cristaux en forme de sablier, bacilles en articles généralement courts et maigres, parfois longs et minces, sans granulations perceptibles et sans mouvement.

Gélatine ordinaire. Culture vieille de huit mois. — Prélèvement

effectué sur de petites colonies sphériques. Bacille réduit en granulations, on observe cependant encore quelques filaments de longueur inconstante.

Gélatine ordinaire, très belle culture vieille de huit mois. — L'auréole nuageuse qui l'entoure est formée de cristaux en haltères, et de très petits cristaux cruciformes; granulations organiques très nombreuses, beaucoup sont accumulées en tas, plusieurs autres conservent la forme linéaire du bacille.

Comme on en peut juger, par ces quelques notes, l'urobacille est sujet à des variations vulgaires, cette espèce de ferment ne présente donc pas un polymorphisme digne d'attirer longtemps l'attention.

L'*Urobacillus Pasteurii* ensemencé en grand nombre sur plaques de gélatine chargée d'urée, fournit rapidement des colonies presque invisibles, et la gelée contracte du jour au lendemain une odeur fortement ammoniacale un peu fétide. Examinées à de faibles grossissements, ces colonies jaunâtres, sphériques ou ovoïdes sont entourées à distance par de nombreux cristaux en forme de boules accouplées en haltères, la surface de ces cristaux n'est pas unie, elle est formée par des polygones sphériques, bases de pyramides convergeant vers le point de tangence des boules. En faisant rouler ces haltères sous le microscope, elles présentent des bosses nombreuses et lisses. La colonie considérée comme centre, ces cristaux se déposent tout autour d'elle, et vont en diminuant de volume au fur et à mesure qu'on s'en éloigne. En écrasant entre la lamelle et le porte-objet la colonie suspendue dans la gélatine, et en examinant à un fort grossissement les microorganismes qui la constituent, on les trouve formés de bâtonnets courts très réguliers de 1, 2 μ de large sur 4 à 6 μ de long, seuls ou associés 2 à 2. Au bout de 48 heures les colonies ne se sont pas notablement accrues, mais de nombreux bacilles sont devenus le siège d'une sporulation active. Beaucoup de bâtonnets montrent une spore circulaire brillante, ordinairement unique, située soit aux extrémités, soit dans d'autres points de leur longueur. Au bout de huit jours la plaque se ramollit, et avec le temps la gélatine est transformée en un liquide de la consistance de l'huile de ricin. C'est

là d'ailleurs un fait qui s'observe pour tous les ferments actifs cultivés sur de la gélatine, tenant en dissolution une quantité d'urée assez élevée, et qui est dû, non pas à l'organisme, mais à l'ammoniaque dont il provoque la formation.

Cultures de l'Urobacillus Pasteurii. — J'envisagerai d'abord les cultures de cette espèce dans les milieux liquides, puis sur les *substrata* solides, ce point n'est pas sans importance, car les cultures fournies par les divers ferments de l'urée sont très dissemblables.

Introduit dans l'urine normale l'*Urobacillus Pasteurii* ne tarde pas à y produire un trouble intense qui va en s'accentuant jusqu'à la fin de la fermentation. A ce moment le liquide montre un dépôt abondant formé de toute sorte de cristaux : phosphate ammoniaco-magnésien, urates alcalins, etc., puis de bacilles, et d'une matière muqueuse qui augmente dans la suite, et prend une teinte noirâtre très prononcée. Plus tard ce mucus se détruit en partie et dans les cultures vieilles d'une année, il n'existe plus, il est remplacé par une poudre noire mêlée à des granulations fort diverses. Nous étudierons plus tard la nature de cette substance pulvérulente qu'on voit se produire non seulement dans l'urine normale, mais dans tous les milieux liquides et parfois dans les milieux solides.

Quand l'urobacille est semé dans les urines artificielles, le liquide donne un trouble beaucoup moins prononcé ; d'abord, c'est un louche léger qui envahit la masse et altère sa limpidité. Après quelques heures de fermentation active, le trouble est devenu intense, on croirait que l'espèce s'est presque subitement accrue en proportion considérable, il n'en est rien cependant, et il faut attribuer ce phénomène à la production d'un brouillard cristallin qu'on voit quelques heures plus tard gagner le fond du vase, en laissant une zone supérieure relativement limpide, dont la profondeur va en augmentant jusqu'à la fin de la précipitation. Ce fait s'observe de même très nettement dans les fermentations artificielles pratiquées avec l'urase, tenue en solution dans du bouillon clair et filtré ; dès que le poids du carbonate d'ammonium produit atteint 6 à 8 grammes, le liquide se trouble puis se clarifie rapidement après cette

réaction. Pour démontrer encore que le trouble aperçu dans une urine artificielle n'est pas dû en entier à l'espèce microbienne, il suffit de verser dans un peu de liquide prélevé du vase où se fait la fermentation, quelques gouttes d'acide chlorhydrique qui dissout ce précipité. J'ajouterai que les urines normales et artificielles devenues ammoniacales sur l'influence de l'*Urobacillus Pasteurii* contractent une odeur putride particulière, fort rarement observée avec les autres ferments de la carbamide. Comme les urines normales, les urines artificielles altérées par cet urobacille donnent un dépôt visqueux qui noircit à la longue et diminue de volume. Quand les urines artificielles sont fortement chargées d'urée, et deviennent par conséquent très ammoniacales, cette substance gluante fait défaut.

L'*Urobacillus Pasteurii* ne croît pas dans les bouillons de culture neutralisés usités dans les laboratoires de bactériologie ; faute de connaître les conditions qui favorisent le développement de cette espèce dans les solutions de peptone, je suis resté près d'une année sans pouvoir l'y cultiver. La difficulté était, il est vrai, facilement tournée ; un peu d'urée ajoutée au liquide rendait la culture prospère, mais je tiens à répéter encore que l'urée n'entrait pour rien dans la fécondation du terrain, qu'il faut attribuer à l'alcalinité produite par la décomposition de 1 à 2 grammes d'urée sous l'influence de la température élevée de l'autoclave.

Le moyen le plus simple d'obtenir une alcalinité favorable au développement de l'urobacille, consiste à ensemencer dans un litre de bouillon de peptone neutre et stérilisée, 10 cmc. environ d'une urine artificielle à 20 p. 1.000 d'urée totalement fermentée. L'alcalinisation par quelques gouttes d'ammoniaque pure, donne des résultats satisfaisants. La soude caustique doit être rejetée, d'abord parce qu'elle détermine la formation de dépôts assez abondants, et ensuite parce que son action fécondante est bien inférieure à celle de l'ammoniaque.

Dans les cultures réussies, le bouillon peptonisé se trouble légèrement au bout de 1 à 2 jours ; ce trouble va en s'accentuant les jours suivants, le liquide devient visqueux et filant, il ne se clarifie jamais spontanément, il fournit

un mucus abondant qui se sépare franchement du liquide, et qu'on peut retirer en bloc du fond du vase, au moyen d'une grosse pipette à pointe effilée ; plus tard, comme on l'observe dans les urines, ce mucus noircit et se détruit.

Dès les premiers jours, la liqueur se charge d'urase, au bout d'une semaine elle en renferme des quantités considérables, et le bouillon obtenu, peut transformer en quelques heures des quantités énormes d'urée en carbonate d'ammoniaque. Le bouillon exhale dès le premier jour une odeur d'une fétidité spéciale, et plus tard celle de la colle altérée. Si l'alcalinité du début est très faible, on constate au bout de plusieurs mois qu'elle a fortement augmenté.

L'*Urobacillus Pasteurii* ne se développe pas dans les liquides uniquement minéraux, ou du moins mes essais tentés jusqu'ici sont restés sans résultats, la culture de cette espèce dans ces sortes de liqueurs serait cependant une chose souhaitable, car on se trouverait en possession d'un procédé permettant d'obtenir à bon marché le ferment soluble de la carbamide.

L'ensemencement par piqûre de ce microbe dans la gélatine ordinaire peptonisée est rarement suivi d'un résultat positif ; 95 fois sur 100 la gelée reste claire et limpide, si l'organisme est bien entendu dans un parfait état de pureté ; cependant j'ai pu obtenir quelques cultures sur ce milieu, mais j'attribue surtout ces succès à une légère alcalinité de la gelée. Dans ces cas rares et heureux, on voit au bout d'un temps plus ou moins long (de 2 à 6 jours), se former dans le trajet suivi par le fil de platine, une multitude de colonies blanches sphériques séparées les unes des autres, sans pouvoir liquéfiant et qu'on retrouve peu grossies, même après un an d'attente, l'organisme est parfaitement vivant après ce laps de temps, en 24 heures il peut provoquer la fermentation complète d'une urine artificielle chargée de 20 grammes d'urée.

Pour obtenir à coup sûr des ensemencements féconds, il suffit d'introduire 1 à 2 grammes d'urée par litre de gélatine ; cette urée est détruite pendant la stérilisation à 110°, mais le milieu conserve une alcalinité suffisante pour favoriser l'éclosion et la multiplication de l'espèce. On peut encore exposer les flacons ou les tubes de gélatine stéri-

lisés, à l'action d'une atmosphère chargée de vapeurs ammoniacales, produite artificiellement en versant quelques gouttes d'alcali volatil sur un peu de papier buvard placé sous une cloche ; la diffusion du gaz ammoniac à travers la gélatine marche lentement, cependant l'opération est terminée au bout de 24 heures, et les gelées sont suffisamment alcalinisées, pour permettre à l'*Urobacillus Pasteurii* de se développer promptement.

Avec la gélatine d'urine ou les gelées chargées de 20 grammes d'urée, le trait plongeant dû à l'ensemencement par le fil de platine, est complètement rempli par une foule de petits cristaux dont le nombre augmente les jours suivants, en même temps que la masse entière de la gelée est le siège d'un envahissement général par un brouillard cristallin ; les colonies bactériennes noyées au sein de ces cristaux grossissent peu et s'aperçoivent rarement à l'œil nu. Elles se nuisent à elles-mêmes par l'abondante production d'urase à laquelle elles donnent rapidement naissance, et par la production de carbonate d'ammoniaque qui en est la conséquence. Aussi est-il juste de dire que les milieux fortement chargés de carbamide sont les plus impropres à l'accroissement des ferments actifs de l'urée, ou pour mieux exprimer ma pensée, à leur multiplication cellulaire.

Ici nous trouvons une nouvelle preuve du dualisme de la fermentation de l'urée ; l'*Urobacillus Pasteurii* semé en un point d'une masse de gélatine bien dosée en urée, vit fort longtemps sur le point très circonscrit où on l'a placé, y évolue dans un espace des plus restreints, mais peut néanmoins produire tout autour de lui et souvent à une distance considérable, un acte fermentatif qui ne saurait être attribué à la vie même de la cellule.

En effet, en dosant l'urée des tranches de gélatine éloignées des colonies, on trouve que cette substance a totalement disparu ou a considérablement diminué. N'est-ce pas là une preuve indéniable que l'acte de nutrition de la cellule microbienne doit être nettement séparée de l'acte chimique appelé hydratation de l'urée, avec lequel on a voulu le confondre?

C'est en vertu de cette faculté que possède lurobacille

d'hydrater l'urée à distance, qu'on voit les gélatines où il est semé, perdre l'urée et se ramollir lentement au fur et à mesure que l'alcalinité du milieu augmente ; au bout d'un mois les cristaux répandus dans le *substratum* ne trouvent plus un terrain assez solide pour les soutenir et tombent au fond du vase ; les traînées cristallines où se cachent les colonies de l'urobacille, résistent plus longtemps, mais à leur tour, elles chutent en bloc au fond du vase où elles ont l'apparence de fulgurites en miniature. La gélatine se clarifie complètement et prend finalement la consistance des huiles grasses.

Ensemencé sur la gélose simplement peptonisée, on ne constate aucun développement ; au contraire sur la gélose alcalinisée, ou chargée d'urée, le microbe qui nous occupe prend fort bien, provoque la formation de cristaux très fins dans la masse, quand le poids de la carbamide atteint 10 p. 1.000, mais on n'observe jamais de fluidification ni de ramollissement notable, même après deux années d'attente.

Sur les gelées fabriquées avec de l'urine normale, le microbe croît très bien en déterminant ordinairement la formation d'une plus grande quantité de cristaux, et l'apparition de quelques autres signes macroscopiques dépendant directement de la composition complexe de ce liquide animal.

Anaérobiose. — *L'Urobacillus Pasteurii* ne se développe pas à l'abri de l'oxygène de l'air ; cependant l'extraction complète des dernières traces de cet élément par le secours du vide, présente de si grandes difficultés, que les fermentations tentées dans les vases vidés à la température ordinaire avec la pompe à mercure, sont souvent le siège d'une légère altération qui s'accuse par la disparition de quelques grammes d'urée ; à l'œil, le liquide n'a pourtant pas perdu de sa limpidité d'une façon appréciable. Avec le procédé de culture anaérobienne, que j'ai préconisé (désoxygénation des liquides nutritifs à 110°, et isolement des cultures par un corps indifférent demi-solide), on obtient des résultats absolument probants, l'urobacille ne se développe pas, et l'urée reste indéfiniment inattaquée. Pour démontrer qu'il ne s'agit pas dans ce cas d'un insuc-

cès de culture, il suffit d'envoyer quelques bulles d'air, ou d'oxygène dans le liquide, qui après une durée d'incubation un peu plus longue que d'habitude, se trouble et fermente rapidement.

Les débuts de fermentation qu'on peut observer dans ces expériences délicates, tiennent tous à l'imperfection des procédés employés plutôt qu'à l'inhabileté de l'expérimentateur. Ordinairement, on juge de l'anaérobiose par le coup d'œil : un bouillon privé d'air reste-t-il limpide? l'organisme qui le trouble au contact de l'atmosphère est considéré comme aérobien. Ici, le trouble n'est pas apparent, et pourtant l'on constate la présence d'un peu de carbonate d'ammoniaque. Il faut donc qu'il y ait eu un développement insignifiant qui a permis la production d'un peu d'urase qui a elle-même agi à dose infinitésimale. Ces résultats incomplètement négatifs viennent donc plutôt confirmer que poser des doutes sur le caractère purement aérobien de l'*Urobacillus Pasteuri*.

Vitalité de l'Urobacille. — L'organisme microscopique que nous étudions, possède une vitalité remarquable; après la fermentation des urines normales ou artificielles titrant 20 grammes d'urée par litre, il continue à végéter dans ces liquides altérés fortement ammoniacaux, en donnant un excès d'urase : abandonne-t-on ces liqueurs à elles-mêmes pendant plusieurs mois ou plus d'une année, on les voit, dans les vases tubulés que j'emploie, s'évaporer lentement, perdre sans doute de leur causticité qui ne cesse pourtant d'être jamais manifeste, et malgré cette action prolongée de l'ammoniaque, les germes vieillis dans les dépôts restent doués d'une grande fécondité. Avec les urines titrant 50 grammes d'urée, l'espèce est encore vivante au bout de 6 mois. Dans les urines à 100 grammes d'urée complètement fermentées, maintenues à 30° et conservées à l'abri de l'air, le liquide agité prélevé à la dose de quelques gouttes, se montre même après 40 et 50 jours d'attente, capable de déterminer la fermentation. Je ne parlerai pas de la fécondité des germes contenus dans les bouillons et les gélatines simplement peptonisées ; ils sont aussi vivaces au bout de deux ans qu'au moment de leur formation.

Action de la chaleur sur le microbe. — Le degré de

chaleur le plus favorable à la fermentation des urines artificielles par l'*Urobacillus Pasteurii*, se trouve situé entre 30° et 40°. Si l'on expose dans deux étuves réglées à ces températures, deux séries de cultures identiques, on remarque souvent que la fermentation est plutôt achevée à 40° qu'à 30°; cependant, dans les urines abandonnées à 40°, les troubles observés et les dépôts sont moins intenses et moins abondants qu'à 30°; je m'explique ce fait par l'accélération toute particulière que les températures élevées impriment à l'action chimique.

Au-delà de 40°, les urines ne fermentent plus que fort péniblement, le même fait s'observe à 10° et à 15°; à 4°, les urines restent inaltérées, ce qui démontre qu'il n'existe pas à ce degré de froid, trace de développement de l'Urobacillus, j'ajoute que s'il en était autrement, pour si peu active que fût cette végétation, on retrouverait dans le liquide des traces appréciables de carbonate d'ammoniaque, car l'uraSe peut agir à la température de 0° et transformer facilement en carbonate d'ammoniaque de 4 à 6 grammes d'urée par 24 heures.

Je donne d'ailleurs dans le tableau suivant les résultats moyens de mes essais à cet égard.

Urine artificielle chargée de 20 *grammes d'urée*

Température	Poids de l'urée disparue par litre après :			
	1 jour	2 jours	6 jours	20 jours
0°	»	»	»	nul
8°-10°	»	»	3gr5	10gr7
15°	5gr1	13gr9	19 6	»
20°	14 6	19 8	»	»
30°	19 8	»	»	»
40°	19 7	»	»	»
42°	»	8 2	19 5	»
45°	2 3	»	4 3	4 2
50°	»	»	»	nul

Quand on voudra provoquer une prompte fermentation avec l'espèce qui nous occupe, on placera le liquide ensemencé vers 40°. Si c'est un développement botanique qu'on désire surtout obtenir, on exposera la culture à 30°.

Les germes de l'*Urobacillus Pasteurii* obtenus sur plaques de gélatine résistent fortement à l'action de la chaleur. Soumis dans l'eau distillée, pendant 2 heures aux températures de 60, 65, 70, 75, 80 et 85°, ils ont toujours déterminé la fermentation des urines artificielles où on les a ensemencés. A la température de 87° on observe 40 à 50 p. 100 d'ensemencements féconds; mais portés à 90 et 93°, ils se sont montrés incapables de germer même après un mois d'incubation. Avec les bouillons surtout chargés d'espèces d'adultes, et d'un nombre de germes brillants relativement très faible, la température de 80° a été trouvé stérilisante. Avec des bacilles déjà affaiblis par l'action du carbonate d'ammoniaque, j'ai observé plusieurs cas, où la reviviscence de l'espèce était impossible après une chauffe de deux heures à 60 et 65°. On voit donc combien il importe de spécifier l'origine des bactéries soumises à l'action de la chaleur. Pour ma part, je considère ces recherches comme les plus délicates de la bactériologie, en raison des contradictions nombreuses auxquelles l'expérimentateur peut se trouver en butte, et qui semblent avoir pour origine le degré inégal de vitalité des bactéries de telle ou telle culture. Rien ne peut nous faire présager à l'avance le degré de cette vitalité, et c'est pour ce motif que dès l'abord ces recherches renferment une inconnue.

De l'action des antiseptiques sur l'urobacille. — Quand on veut étudier l'action des antiseptiques sur les bactéries, de façon à obtenir comme résultat de ces recherches des conclusions utiles au clinicien, on doit se demander dans quel sens il importe de les diriger. Doit-on s'attacher à déterminer le poids d'antiseptique capable de s'opposer à l'altération du liquide de culture largement ensemencé avec plusieurs millions de bactéries appartenant à l'espèce considérée ? Est-il préférable de rechercher le poids de la substance toxique pouvant arrêter une altération déjà commencée ? Ou plus utile de déterminer la dose mortelle d'antiseptique pour le microbe, en faisant dans ce dernier cas intervenir un facteur important, le temps?

Pour un chirurgien, un germe immobilisé durant la période de restauration d'une plaie, diffère peu d'un germe

tué ; pour le bactériologiste, une confusion semblable, serait féconde en causes d'erreur ; mais s'il est au pouvoir de ce dernier savant d'anéantir sans difficulté tous les microbes tangibles. Le praticien, suivant qu'il agit en chirurgien ou en médecin, c'est-à-dire suivant qu'il veut détruire les germes répandus à la surface d'une blessure ou d'une cavité accessible, ou disséminés dans les viscères et les liquides de l'économie, et à ce titre indirectement accessibles, ne saurait tirer un bien grand profit de plusieurs catégories d'expériences effectuées dans les laboratoires. Le devoir du chirurgien est de prévenir l'infection, et si elle se déclare, il lui incombe celui de l'arrêter dans sa marche, afin d'en conjurer les effets malfaisants.

Il paraît donc rationnel de déterminer tout d'abord pour chaque microbe, le titre de la liqueur antiseptique *préservatrice*, puis la teneur en antiseptique du liquide pouvant lutter efficacement contre une infection déjà établie, l'arrêter brusquement. en neutraliser les effets, et en prévenir le retour. Je prise bien moins ces recherches scientifiques, qui consistent à placer sur des fils de soie ou de platine, les germes des microbes, et à les soumettre ensuite au contact de solutions parfaitement titrées d'antiseptique dans l'eau distillée. Par ces expériences, on parvient il est vrai à classer les antiseptiques suivant leur puissance d'action à l'égard d'une espèce déterminée, mais il n'existe aucun rapport entre les doses nocives pour les germes ainsi plongés dans des solutions aqueuses et les doses de substance qu'il faut pour tuer ou paralyser les mêmes bactéries répandues à la surface des plaies ; cela est facile à saisir, car on sait que beaucoup de substances éminemment toxiques pour les bactéries : les mercuriaux, les sels d'argent, les solutions iodées, etc..., rencontrent dans les sérosités de toute sorte, plusieurs substances avec lesquelles elles entrent en combinaison pour donner des corps parfois insolubles, par conséquent inactifs. D'autrefois, la combinaison n'est que partielle, quoi qu'il soit, si l'expérience pratiquée dans des matras de verre a démontré, par exemple, que telle bactérie ne résiste pas une heure à l'action d'une solution de sublimé à 1 : 100. 000, la même bactérie pourra vivre et prospérer dans un milieu chargé de substances

albuminoïdes où l'on aura ajouté du bichlorure de mercure dans la proportion de 1 : 10.000.

On m'a reproché d'avoir établi mes recherches antérieures, de façon telle que l'antiseptique réservé pour la bactérie, était partiellement absorbé par les éléments des liquides de culture ; le but cherché paraissait donc manqué. A cela je réponds, que c'est professer une idée bien étroite sur les antiseptiques que de juger de leur efficacité par l'action qu'ils peuvent exercer sur la bactérie au-dehors de toute entrave, comme s'il n'était pas plus pratique dans la majorité des cas de prévenir les envahissements microbiens, en rendant les milieux favorables à leur culture complètement impropres à leur développement. Est-ce que la plupart des antiseptiques, ceux qui occupent à juste titre le rang le plus élevé, n'agissent pas sur les bactéries en détruisant la nutritivité des milieux, où elles peuvent prospérer ? le mercure, l'argent, l'iode, ont non seulement une action destructive sur la bactérie adulte et à l'état de germe, mais ils doivent être considérés comme des modificateurs puissants, capables d'enlever la fécondité aux terrains de cultures, d'anéantir les toxines, etc... Le chirurgien, l'accoucheur, le savent parfaitement, très souvent ne pouvant parvenir à détruire les bactéries, ils s'efforcent à paralyser leur action malfaisante, et pour arriver à ce but, ils multiplient les lavages et les pansements antiseptiques. Hors les cas rares, où la destruction rapide des microbes inoculés s'impose au moyen du feu ou des caustiques énergiques, la désinfection est un acte complexe dont on recueille souvent les bons effets sans en connaître à fond le mécanisme ; mieux vaudrait cependant en savoir la théorie pour en pouvoir raisonner l'application.

Prenons un malade atteint d'ammoniurie, et admettons que l'*Urobacillus Pasteurii* soit solidement établi dans sa vessie, non seulement cet organisme transformera sans trêve l'urée de l'urine, en carbonate d'ammoniaque, mais il produira un excès de ferment soluble qui garantira la fermentation ammoniacale pendant de longs jours. Les injections d'eau phéniquée seront impuissantes à conjurer le mal, car elles échouent autant contre le microbe que contre

le ferment soluble. Peut-on songer un instant à aller brûler la muqueuse avec des solutions concentrées de substances caustiques, pour détruire les germes très résistants de l'urobacille? Ce serait une étrange pratique : on commencera par arrêter la fermentation, et à cet effet, je préconise les lavages de sublimé à 1 : 100.000, qui n'ont aucune action sur l'urobacille, mais qui s'attaquent directement à l'urase et la détruisent. Pour déloger en second lieu l'urobacille, retarder son action sur l'urine, non seulement on lavera fréquemment la vessie avec de l'eau chargée d'acide borique à 1 : 100 mais on laissera autant que possible une certaine quantité de cette solution dans ce réservoir naturel; en présence de 1 : 500 et même de 1 : 1000 d'acide borique, le microbe ne se développant que faiblement, la fermentation deviendra de plus en plus languissante, et les lavages boriqués fréquemment pratiqués, expulseront de la vessie l'organisme parasite qu'on aurait cherché vainement à atteindre par les microbicides directs, sans compromettre la muqueuse vésicale, et peut-être la santé du malade.

Dans ce cas, qui rentre directement dans le sujet que je traite, vouloir tuer le microbe sur place, serait un acte très imprudent, quand on peut l'expulser lentement après l'avoir rendu inerte, et par conséquent inoffensif. Les mercuriaux à dose infinitésimale (mes expériences établissent que l'urase est détruite par des solutions à 1 : 10.000.000 de sublimé) seront employées au début chez les ammoniuriques, pour faire cesser promptement l'alcalinité de leurs urines; l'acide borique sera utilisé ensuite pour compléter la guérison.

Je regrette de n'avoir pu trouver le loisir de calculer les doses d'antiseptique qui suspendent une fermentation ammoniacale bien établie; on trouvera dans les pages qui suivent la détermination de celles qui la préviennent dans les conditions les plus favorables; le liquide antiseptisé par quelques substances chimiques, très usitées en thérapeutiques a toujours été l'urine artificielle à 20 gr. p. 1.000 d'urée, que j'ai pris soin d'ensemencer avec plusieurs milliards d'individus très vivaces, prélevés dans des cultures vieilles au plus de 24 heures.

Action du Biiodure de mercure sur l'Urobacillus Pasteurii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de :			
		2 jours	4 jours	6 jours	un mois
1 gr 000	1 : 1.000	»	»	»	nulle
0 200	1 : 5.000	»	»	»	nulle
0 100	1 : 10.000	»	»	»	nulle
0 100	1 : 10.000	»	»	»	nulle
0 100	1 : 10.000	»	»	»	nulle
0 066	1 : 15.000	»	»	»	nulle
0 066	1 : 15.000	»	»	»	nulle
0 066	1 : 15.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	»	»	3 gr 7
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 040	1 : 25.000	19 gr 9	»	»	»
0 040	1 : 25.000	16 3	»	»	»
0 020	1 : 50.000	»	15 gr 6	»	»
0 020	1 : 50.000	19 7	»	»	»
0 020	1 : 50.000	13 4	»	»	»

Parfois à 1 : 20.000 le biiodure de mercure se montre impuissant à arrêter tout début de fermentation ; sous un poids moindre, la fermentation est ordinairement rapide, ce qui est l'indice de la combinaison presque complète de sel mercurique avec les substances albuminoïdes contenues dans l'urine artificielle.

Action du Nitrate d'Argent sur l'Urobacillus Pasteurii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de :			
		2 jours	4 jours	6 jours	un mois
1 gr 000	1 : 1.000	»	»	»	nulle
0 200	1 : 5.000	»	»	»	nulle
0 100	1 : 10.000	»	»	»	nulle
0 066	1 : 15.000	»	»	»	nulle
0 066	1 : 15.000	»	»	»	nulle
0 066	1 : 15.000	»	»	»	nulle
0 066	1 : 15.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	»	»	19 gr 7
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 040	1 : 25.000	»	19 gr 6	»	»
0 040	1 : 25.000	11 gr 7	»	»	»
0 040	1 : 25.000	9 9	»	»	»

Le nitrate d'argent suit de près le biiodure de mercure ; son action préventive sur la fermentation ammoniacale s'exerce sûrement à 1 : 15.000, bien qu'il n'existe peut-être pas en chimie de sel plus facile à se décomposer sous les actions combinées de la lumière et des substances organiques.

Action du Sublimé corrosif sur l'Urobacillus Pasteurii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de :			
		2 jours	4 jours	6 jours	un mois
1 gr 000	1 : 1.000	»	»	»	nulle
0 500	1 : 2.000	»	»	»	nulle
0 250	1 : 4.000	»	»	»	nulle
0 200	1 : 5.000	»	»	»	nulle
0 200	1 : 5.000	»	»	»	nulle
0 200	1 : 5.000	»	»	»	nulle
0 200	1 : 5.000	»	»	»	nulle
0 200	1 : 5.000	»	»	»	nulle
0 166	1 : 6.000	»	»	»	nulle
0 166	1 : 6.000	»	»	»	nulle
0 143	1 : 7.000	»	»	»	nulle
0 133	1 : 7.500	»	»	»	nulle
0 133	1 : 7.500	»	»	»	nulle
0 133	1 : 7.500	»	»	»	nulle
0 125	1 : 8.000	»	»	»	nulle
0 111	1 : 9.000	»	»	»	nulle
0 100	1 : 10.000	»	»	»	nulle
0 100	1 : 10.000	12 gr 5	»	»	»
0 100	1 : 10.000	»	»	»	nulle
0 100	1 : 10.000	»	10 gr 4	»	»
0 100	1 : 10.000	»	»	»	nulle
0 066	1 : 15.000	19 gr 8	»	»	»
0 066	1 : 15.000	18 1	»	»	»
0 050	1 : 20.000	19 7	»	»	»

Le sublimé corrosif n'est sûrement efficace qu'à une dose inférieure à 1 : 10.000, comme en témoignent les chiffres insérés dans le tableau précédent. Pour agir, il demande à être employé à une dose 2 à 3 fois plus élevée que le biiodure de mercure en solution iodurée ; les auteurs qui ont prétendu que l'action de ce dernier sel était dans la plupart des cas égale à celle du bichlorure de mercure se sont mis, je le

crains, en contradiction avec des faits d'un contrôle aisé. Le sublimé me paraît entrer plus facilement que le biiodure en combinaison avec les substances albuminoïdes; quoiqu'il en soit, lorsqu'une fermentation ammoniacale débute, ces deux corps n'existent pas en quantité appréciable dans les urines artificielles qui ne pourraient devenir ammoniacales, si ils s'y trouvaient encore à l'état de liberté sous le poids de 1 : 500.000.

Action du Sulfate de Cuivre sur l'Urobacillus Pasteurii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de :			
		2 jours	4 jours	6 jours	un mois
1 gr 000	1 : 1.000	»	»	»	nulle
1 000	1 : 1.000	»	»	»	nulle
1 000	1 : 1.000	»	»	»	nulle
0 500	1 : 2.000	»	4 gr 8	»	»
0 500	1 : 2.000	6 gr 7	19 8	»	»
0 500	1 : 2.000	»	8 6	»	»
0 500	1 : 2.000	»	»	»	nulle
0 400	1 : 2.500	17 gr 8	»	»	»
0 333	1 : 3.000	»	»	8 gr 5	»
0 333	1 : 3.000	12 gr 5	»	»	»
0 333	1 : 3.000	18 9	»	»	»
0 333	1 : 3.000	19 6	»	»	»

Ce sel, comme je l'ai démontré depuis longtemps, occupe un bon rang parmi les antiseptiques vulgaires ; dans le biogénèse de l'ammoniaque, son action préservatrice est certaine à 1 : 1.000. A dose deux fois plus faible, les fermentations sont peu rapides, ce qui tient à ce que le sel devenu impuissant à contrarier le développement du microbe, exerce néanmoins, une action entravante sur les fonctions chimiques de l'urase. Il partage cette propriété précieuse avec l'acide borique, et l'on n'est pas peu surpris dans ces deux cas de constater que le microbe se développe en toute liberté, mais qu'il a perdu le pouvoir d'agir sur l'urée; n'est-ce pas là une nouvelle preuve que la fermentation ammoniacale s'accomplit en deux temps, dont l'un correspond à un acte physiologique de nutrition et de sécrétion ; et le second à un acte chimique du produit sécrété sur la carbamide ?

Action de l'Iode sur l'Urobacillus Pasteurii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de : 2 jours	4 jours	6 jours	un mois
10 gr 000	1 : 100	»	»	»	nulle
5 000	1 : 200	»	»	»	nulle
4 000	1 : 250	»	»	»	nulle
4 000	1 : 250	»	»	»	nulle
3 333	1 : 300	»	»	»	nulle
2 500	1 : 400	»	»	»	nulle
2 000	1 : 500	»	»	»	nulle
2 000	1 : 500	19 gr 8	»	»	»
2 000	1 : 500	»	»	»	nulle
2 000	1 : 500	»	»	»	nulle
2 000	1 : 500	»	»	»	nulle
2 000	1 : 500	»	18 gr 5	»	»
1 666	1 : 600	»	8 9	»	»
1 430	1 : 700	18 gr 0	»	»	»
1 000	1 : 1.000	19 7	»	»	»
1 000	1 : 1.000	19 6	»	»	»
1 000	1 : 1.000	16 2	»	»	»

A deux grammes pour 1.000 ou à 1 : 500, l'iode agit peu sûrement sur l'*Urobacillus Pasteurii;* ce corps est d'ordinaire plus actif, et j'attribue dans ce cas particulier son action relativement faible à son élimination partielle par l'ammoniaque, qui existe toujours à l'état de liberté dans les urines artificielles stérilisées à haute température; dans tous les cas, l'iode ne reste jamais à l'état de liberté dans les bouillons, et doit être considéré comme un agent modificateur des milieux nutritifs.

Action de l'Acide Borique sur l'Urobacillus Pasteurii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de : 2 jours	4 jours	6 jours	un mois
10 gr 000	1 : 100	»	»	»	nulle
10 000	1 : 100	»	»	»	nulle
10 000	1 : 100	»	»	»	nulle
5 000	1 : 200	»	»	»	nulle
3 333	1 : 300	»	»	»	nulle
3 333	1 : 300	»	»	»	nulle
3 333	1 : 300	»	»	»	nulle

Action de l'Acide Borique sur l'Urobacillus Pasteurii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de : 2 jours	4 jours	6 jours	un mois
2 gr 500	1 : 400	»	6 gr 5	»	»
2 500	1 : 400	7 gr 3	»	»	»
2 500	1 : 400	»	»	»	3 gr 4
2 000	1 : 500	3 gr 2	16 gr 6	»	»
2 000	1 : 500	6 8	»	»	»
2 000	1 : 500	5 6	12 gr 4	»	»
1 666	1 : 600	4 6	8 3	»	»
1 250	1 : 800	10 7	»	»	»
1 000	1 : 1.000	12 1	»	»	»

Dans les milieux chargés d'urée, où l'acide borique subsiste à l'état naturel ou à l'état de borate d'ammoniaque, comme dans le cas actuel, la fermentation est gênée par suite de l'immobilisation de l'urase sécrétée au fur et à mesure par l'urobacille : ce fait ne s'observe pas avec les antiseptiques plus puissants, déjà considérés, par la raison qu'après s'être combinés en totalité ou en majeure partie avec les substances protéiques répandues dans les urines artificielles, ils laissent le ferment soluble accomplir son action hydratante en toute liberté.

Action de l'acide Phénique sur l'Urobacillus Pasteurii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de : 2 jours	4 jours	6 jours	un mois
40 gr 000	1 : 25	»	»	»	nulle
20 000	1 : 50	»	»	»	nulle
20 000	1 : 50	»	»	»	nulle
15 000	1 :	»	»	»	nulle
10 000	1 : 100	12 gr 2	»	»	»
10 000	1 : 100	»	»	»	nulle
10 000	1 : 100	»	11 gr 7	»	»
10 000	1 : 100	»	»	»	»
10 000	1 : 100	»	»	»	»
5 000	1 : 200	17 gr 8	»	»	»
5 000	1 : 200	19 8	»	»	»
4 000	1 : 250	19 6	»	»	»
3 333	1 : 300	19 7	»	»	»
2 000	1 : 500	19 8	»	»	»

Enfin, l'acide phénique n'arrête pas toujours à 1 : 100 la fermentation des urines par l'urobacille et se montre aussi mauvais antiseptique pour l'espèce organisée que pour la diastase qu'elle sécrète.

Le tableau qui suit résume les résultats des expériences précédentes :

Doses minima de quelques antiseptiques capables de s'opposer efficacement à la fermentation d'un litre d'urine artificielle

Substances	Poids	Titre des solutions
Biiodure de mercure. . . .	0gr 050	1 : 20.000
Nitrate d'argent	0 066	1 : 15.000
Sublimé corrosif.	0 111	1 : 9.000
Sulfate de cuivre.	1 000	1 : 1.000
Iode	2 500	1 : 400
Acide borique	3 333	1 : 300
Acide phénique	15 000	1 : 66

J'ai encore essayé l'action des essences sur l'*Urobacillus Pasteurii;* quand on recouvre une urine convenablement ensemencée avec une couche d'huile essentielle, la fermentation ne se déclare jamais dans le sein du liquide. Le chloroforme ajouté en excès dans un vase contenant de l'urine artificielle, ne s'oppose pas toujours à la fermentation ammoniacale, et l'on obtient des résultats contradictoires ; vraisemblablement par la raison que le chloroforme dissous s'évapore rapidement dans les couches supérieures du liquide ; si on s'oppose à cette volatilisation en renfermant les urines dans des vases scellés, les résultats sont constamment négatifs. Le chloroforme qui agit si manifestement sur le microbe, n'exerce pas d'action appréciable sur l'urase. L'éther sulfurique de même que le chloroforme suspend la biogénèse de l'ammoniaque.

Il me resterait pour compléter l'histoire de ce premier ferment, à relater plusieurs faits que j'ai eu l'occasion d'observer durant son étude, mais beaucoup d'entre eux sont relatifs à la sécrétion de l'urase, et trouveront leur place dans un chapitre spécial ; d'autres ont trait aux recherches restées toutes négatives, sur les propriétés malfaisantes de ce microbe ; inoculé en grand nombre aux animaux vivants, il

s'est montré parfaitement innocent, ainsi que la diastase qu'il sécrète, et que j'ai pu lancer à haute dose dans le torrent circulatoire, sans produire d'autre trouble qu'un malaise passager, paraissant provenir plutôt de l'injection pratiquée sous un volume exagéré que des qualités toxiques de l'urase.

Il importerait cependant de rechercher l'action nocive de cette bactérie portée artificiellement dans les reins et dans la vessie ; malheureusement je suis si mal outillé pour ces recherches de pathologie expérimentale, que je dois y renoncer, et laisser à d'autres le soin de les poursuivre et de les mener à bonne fin.

(*A suivre.*)

REVUES ET ANALYSES[1]

W. West. — **Liste des desmidiées des Massachussetts U. S. A.** (*Journal of the Royal microscopical Society*, Part. I, février 1889).

Il résulte des patientes investigations de M. W. West, professeur de botanique et de matière médicale au collège de Bradfort, que la flore desmidienne des Massachussetts compte 84 espèces et plusieurs variétés, y compris quelques genres nouveaux rencontrés pour la première fois par ce savant algologue ; nous donnons intégralement cette liste intéressante :

Hyalotheca dissiliens Bréb., var. *hians* Wolle.

Desmidium Swartzii Sparingly.

Penium digitus Bréb., *oblongum* de By, *Margaritaceum* Bréb., *polymorphum* Perty, *Brebissoni* Ralfs, *crassa* de Bary, *rupestre* Kütz.

Closterium lanceolatum Kütz., *subdirectum* nov. sp., *lunula* Ehrenb., *cucumis* Ehrenb., *acerosum* Ehrenb., var. *elongatum* nov. var., *strigosum* Ehrenb., *striolatum* Ehrenb., *costatum* Corda, *acutum* Bréb., *Dianæ* Erenb., *Jenneri* Ralfs, *Venus* Kütz., *parvulum* Naeg., *Ehrenbergii* Meneg., *Leibleinii* Kütz., *Leibleinii curtum* nov. var., *rostratum* Ehrenb., *rostratum brevirostratum* nov. var.

Docidium nodulosum Ralfs, *Archerii* Delp., *Trabecula* Naeg.

Calocylindrus Cucurbita Kirch., *curtus* Kirch., *pseudo-connatus* Nord.

Cosmarium Cordanum Bréb., *Cucumis* Corda, *granatum* Bréb., *tinctum* Ralfs. *nitidulum* de Not., *pseudonitidulum* Nord., *lœve* Raben., *lœve septentrionale* Wille, *Meneghinii octangularis simplissimum* Wille, *undulatum crenulatum* Wolle, *Nœgelianum.* Bréb., *pyramidatum* Bréb., *galeritum* Nord., *triplicatum* Wolle, *punctulatum* Bréb., *Botrytis* Meneg., *octhodes* Nord., *orbiculatum* Ralfs, *amœnum* Bréb., *Phaseolus* Bréb., *pygmœum* Arch. ? *Broomei* Thwaiter, *speciosum* Lund.

---

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de micrographie* seront nalysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

Xantidium Tylerianum nov. sp.

Arthrodesmus convergens Ralfs.

Euastrum oblongum Ralfs, *verrucosum* Lund., *verrucosum alatum* Wolle, *binale* forma *minor* Ralfs, *crassicolle* Lund, *elegans* Kütz.

Miscrasterias radiosa Ralfs, var. *punctata* nov. var., *papillifera* Bréb., *rotata* Ralfs, *fimbriata* Ralfs, *Americana* Kütz., *crenata* Ralfs, *truncata* Ralfs.

Staurastrum muticum Bréb., *angulatum* nov. sp., *polymorphum* Bréb., *muricatum* Bréb., *rugulosum* Bréb., *punctulatum* Bréb., *pygmæum* Bréb., *alternans* Bréb., *Meriani* Reinsch., *Sebaldi* Reinsch., *teliferum* Ralfs, *Brebissonii* Arch., *echinatum* Bréb., *hirsatum* Bréb., *furcigerum* Bréb., *eustephanum* Ralfs, *spongiosum* Brébisson.

Dr M.

L. Pasteur. — **Sur la méthode de prophylaxie de la rage après morsure** (*Comptes rendus de l'Académie des sciences,* t. cviii, p. 228).

Dans la séance du 17 janvier 1889 de l'Académie des Sciences, M. Pasteur a lu la courte note qu'il avait deux jours auparavant remise à LL. A. R. le prince et la princesse de Galles, lors de leur visite à l'Institut Pasteur. Ces quelques phrases consolantes, nous les reproduisons *in extenso*.

« Du 1er mai 1888 au 1er mai 1889, l'Institut Pasteur a traité 1,673 personnes mordues par des chiens enragés ou très suspects de rage : 1,487 Français, 186 étrangers.

« Sur ce nombre de 1,673, il y avait 118 personnes mordues à la tête ou au visage.

« 6 personnes, dont 4 mordues à la tête et 2 aux membres, ont été prises de rage pendant le traitement, 4 autres ont été prises moins de 15 jours après la fin du traitement.

« 3 personnes mordues à la tête sont mortes après l'achèvement complet du traitement. Ce sont donc 3 insuccès de la méthode sur 1,673 personnes traitées, soit un cas de mort sur 554 traités.

« En admettant même, ce qui serait illogique, au passif de la méthode, outre ces 3 cas, les 10 cas de mort dont je viens de parler, on aurait 13 cas de mort sur 1,673 ; soit 1 cas de mort sur 128 personnes traitées »

Les statistiques les plus favorables à la guérison de la rage après morsure des animaux domestiques reconnus hydrophobes, ou soupçonnés tels, portent que sur 100 personnes mordues, 15 au moins sont les victimes de cette affection redoutable ; en reprenant le

chiffre de 1,673 personnes mordues traitées à l'Institut Pasteur durant une année, il ressort qu'avant l'application de la méthode prophylactique de la rage employée par M. Pasteur, 251 personnes auraient fatalement succombé ; donc, 238 ont été sauvées, grâce aux vaccinations antirabiques.

Nous n'avons pas à faire ressortir les bienfaits d'un traitement qui s'impose par d'aussi beaux résultats.

Dr M.

J. Courmont. — **Sur une nouvelle tuberculose bacillaire, d'origine bovine** (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. cix, p. 160).

M. Courmont a découvert un nouveau bacille de la tuberculose dans une lésion pleurale d'un bœuf atteint de pommelière ; ce bacille mobile, court, large, composé d'une zone médiane claire légèrement étranglée et de deux noyaux terminaux, croît sur les milieux nutritifs vulgaires ; il ne liquifie pas la gélatine et peut être cultivé à 46° et dans le vide. Inoculé à des lapins et des cobayes, il détermine rapidement une infection locale et générale, le microbe ne reste pas cantonné dans les tubercules, il envahit le sang et les humeurs de l'économie. Cette tuberculose déterminée expérimentalement chez le lapin, n'est pas toujours transmissible aux cobayes, et réciproquement. Néanmoins, le bacille tue les animaux inoculés par suite de son envahissement rapide des liquides de l'économie. Les tubercules observés ne diffèrent pas de ceux que provoque le bacille de Koch. La découverte de M. J. Courmont est des plus importantes, elle vient à l'appui d'une théorie que nous avons toujours soutenue ; à savoir : que les phénomènes pathologiques comme les phénomènes physiologiques, d'origine microphytienne, n'ont pas seulement un microbe spécifique pour cause, mais plusieurs cellules microscopiques souvent sans parenté botanique, cela est si vrai qu'on ne saurait citer une seule fermentation qui ne puisse avoir pour agent plusieurs organismes.

M. J. Courmont ajoute en terminant sa communication, que les produits solubles sécrétés durant la vie par ce nouveau bacille, loin de vacciner les animaux et de leur conférer l'immunité contre la tuberculose, augmentent leur réceptivité pour cette affection ; c'est également un fait important à noter, mais qui n'est pas en contradiction avec ce que l'on observe chez l'homme et les animaux. Dans les tuberculoses à marche lente, les toxines sécrétés par les bacilles, loin de rendre l'individu réfractaire à l'infection, semblent au contraire favoriser l'envahissement et la généralisation des tubercules, et l'individu succombe sans avoir éprouvé les bienfaits d'une autovaccination. Le contraire s'observe cependant dans beaucoup

d'autres maladies. Bref, nous savons aujourd'hui que l'immunité peut être conférée naturellement par une première atteinte de maladie, ou artificiellement par des inoculations diverses, mais nous ignorons absolument le mécanisme de cette immunité.

Dr M.

Dr D. v. Esmarch. — **Le sort des microorganismes pathogènes dans le cadavre** (*Zeitschrift für Hygiene*, VII, 1, p. 1).

Le sort des microorganismes pathogènes enfouis avec les cadavres des animaux dont ils ont déterminé la mort et abandonnés avec ceux-ci aux nombreux microbes de la putréfaction, a été peu étudié jusqu'ici. A part quelques observations de MM. Pasteur et Koch sur le charbon et quelques expériences faites par M. Feser sur des cadavres d'animaux charbonneux, auxquelles l'auteur aurait pu joindre celles de MM. Cadéac et Mallet sur la résistance des matières tuberculeuses et morveuses à la putréfaction, on ne trouve pas grand'chose sur ce sujet dans l'abondante littérature bactériologique de nos jours. Ce point a cependant un grand intérêt pratique, au point de vue de l'hygiène, car de sa solution dépend en partie, la question de savoir si des cimetières, par exemple, peuvent constituer un danger pour la santé publique en devenant une source d'infection.

M. V. Esmarch a expérimenté avec neuf différentes bactéries pathogènes. Les animaux ayant succombé à l'infection étaient soumis à l'influence de la putréfaction dans les conditions les plus diverses. Tantôt les cadavres étaient enfouis dans la terre (dans des pots à fleurs) à des profondeurs diverses, tantôt ils étaient laissés à l'air libre ; d'autres étaient plongés dans l'eau, et quelques-uns placés à l'étuve pour provoquer une putréfaction très rapide et active. A des intervalles divers des parcelles d'organes ou des macérations auxquelles ils étaient réduits étaient prélevées et examinées d'abord microscopiquement. Quand les cadavres n'étaient pas encore entièrement envahis par les microorganismes de la putréfaction, cet examen microscopique pouvait encore fournir des résultats positifs ; habituellement, il ne servait qu'à éclairer l'expérimentateur sur le nombre des dilutions à employer pour les cultures sur plaques. En même temps que l'on procédait à celles-ci dans des tubes d'Esmarch, on pratiquait encore des inoculations avec des matières prélevées sur différentes parties des cadavres. Dans les cas où il s'agit de bactéries pathogènes, même inoculées en petite quantité, comme par exemple la septicémie des souris ou le charbon, cette méthode donne des résultats bien supérieurs aux plaques, car dans bien des cas où celles-ci n'avaient fourni au-

cune colonie du microorganisme cherché, l'inoculation décela encore sa présence et sa virulence par la mort des animaux d'expériences.

Quelque intéressantes qu'elles soient, nous ne pouvons ici entrer dans le détail des nombreuses expériences de M. V. Esmarch qui se répartissent sur une durée de deux années, et nous nous bornons à donner les résultats généraux obtenus avec les différents microorganismes qu'il a étudiés.

Bacille de la septicémie des souris. — La rapidité de la putréfaction joue ici un grand rôle. Quand elle est lente (cadavre enfoui dans la terre), les bacilles peuvent être retrouvés vivants encore au bout de quatre-vingt-dix jours. Plus la putréfaction est active, par contre, moins leur vie dure. Ainsi, dans un cadavre enfoui dans de la terre et placé à l'étuve, les bacilles avaient disparu au bout de huit jours déjà.

Bacilles du rouget. — Les expériences faites avec ce microorganisme donnèrent des résultats analogues aux précédents.

Bactéridie charbonneuse. — Privé de spores, ce microorganisme s'est montré fort peu résistant. Celles-ci, on le sait, ont besoin d'oxygène pour se former ; dans les cadavres enterrés immédiatement il ne s'en forme pas, aussi voit-on dans les expériences de M. V. Esmarch les bactéridies disparaître en peu de jours, surtout dans les cas de putréfaction active. Une seule fois on la retrouva vivante encore après dix-huit jours Il semble donc qu'il n'y ait aucun danger à enfouir les animaux charbonneux, à condition toutefois qu'ils ne soient pas restés assez longtemps exposés à l'air dans des conditions permettant la formation des spores. Quand celles-ci se sont produites la virulence des matières cadavériques est naturellement beaucoup plus longue. Dans deux expériences où M. V. Esmarch avait introduit des spores dans de la viande et abandonné celle-ci à la putréfaction, il les retrouva vivantes après dix-sept et dix-huit jours. Il nous paraît seulement regrettable que l'auteur n'ait pas institué à cet égard de plus nombreuses expériences montrant la durée maximum de la vie des spores charbonneuses dans les matières putréfiées.

Choléra des poules. — Ce microbe ne se maintient vivant que pendant trois à quatre semaines dans les cadavres.

Micrococcus tetragenus. — Ce micrococcus est le seul dont M. V. Esmarch ait pu se servir pour ses expériences. En effet les staphylococcus pyogenes, le micrococcus de l'érysipèle, etc., ne sont pathogènes pour les animaux, qu'inoculés en doses massives ; l'inoculation des matières cadavériques n'aurait donc guère présenté de chances de réussite et il eût également été fort problématique de retrouver leurs colonies parmi celles des nombreux microorganismes de la putréfaction. Le M. *tetragenus*, au contraire, peut être inoculé avec succès aux souris à des doses minimes. Les expé-

riences démontrèrent qu'il ne survit que peu de jours aux animaux qu'il fait périr.

Bacille de l'œdème malin (vibrion septique). — Il était intéressant d'étudier ce bacille, si répandu dans la terre, la poussière, etc., et anaérobie, ce qui pouvait faire supposer qu'il resterait longtemps virulent dans le cadavre. L'auteur l'a, en effet, trouvé vivant encore après cent soixante-trois jours, au moins dans un cas ; dans les autres cas, au contraire, sa vitalité ne s'est pas montrée supérieure à celle des autres microorganismes qu'il a étudiés.

Bacille de la tuberculose. — L'auteur n'a fait que deux expériences. Des poumons tuberculeux de bœuf et des cadavres de cobayes tuberculeux furent enfouis et employés après deux cent quatre et deux cent cinquante-deux jours à des inoculations. Les animaux inoculés restèrent indemnes.

Tétanos. — Une souris tétanique fut exposée à la putréfaction à l'air libre, à la température de la chambre, pendant trente-cinq jours. Après ce temps, les matières cadavériques inoculées ne produisirent plus le tétanos.

Choléra asiatique. — Dans les cadavres de cobayes morts du choléra (inoculés d'après la méthode de Koch), on put retrouver, par des cultures sur plaques, des colonies caractéristiques jusqu'au cinquième jour. Le septième jour, des tubes de gélatine liquéfiée donnèrent encore la réaction rouge du choléra. Passé ce temps, il ne fut plus possible de trouver des spirilles vivants.

Bacille du typhus. — Il eut été fort intéressant d'obtenir des résultats probants avec ce microorganisme. On se heurte malheureusement ici aux difficultés déjà mentionnées : d'une part l'inoculation du bacille typhique en petite quantité reste sans effet sur les animaux, d'autre part, il est des plus difficile de distinguer avec certitude ses colonies parmi les microorganismes innombrables de la putréfaction qui se développent sur les plaques. La seule expérience faite à ce sujet par M. V. Esmarch fit seulement constater qu'un morceau de viande dans lequel on introduit ce microbe et qu'on laissait putréfier à l'air libre, n'en contient plus après trois jours.

De ses expériences M. V. Esmarch conclut que dans la plupart des cas les microbes pathogènes ne vivent pas longtemps dans les cadavres. Plus la putréfaction est active, plus leur disparition est rapide. Il pense, en conséquence que ces résultats parlent en faveur de l'opinion de ceux qui ne voient ni dans l'air, ni dans l'eau provenant des cimetières un danger pour la santé publique.

E. F.

Dr Gian Pietro Piana. — **Observations et expériences sur un micro-organisme cause d'une affection des bovidés se distinguant du charbon bactéridien et du charbon symptomatique** (*Clinica veterinaria*, deuxième année, 1889, p. 6).

M. Piana a eu l'occasion d'examiner les organes de bovidés ayant succombé à une maladie présentant les caractères d'une septicémie. L'examen microscopique montra qu'il ne s'agissait pas, comme on l'avait pensé au début, du charbon bactéridien ou du charbon symptomatique, car les microorganismes spécifiques de ces deux maladies faisaient défaut. L'auteur y trouva, par contre, des micro-organismes ronds ou ovales ; les exemplaires ronds ont un diamètre de 0,5 à 0,6 μ, les individus ovales que M. Piana considère comme des bactériums sont longs de 1, 2 à 2, 4 et larges de 0,5 à 0,6 μ. Ce sont, on le voit, plutôt les dimensions des formes bacillaires. Ce microbe se cultive à 20 — 23° sur différents milieux de culture. Sur la gélatine il ne paraît pas croître avec beaucoup de vigueur ; il pousse dans l'intérieur de la piqûre sous forme de gouttelettes, et produit à la surface un petit disque d'environ 7^{mm}. Inoculé par strie sur de la gélose inclinée dans un tube à essai, il forme une traînée blanchâtre de 3 à 5^{mm} de largeur. Sur le sérum de sang il produit également une traînée dont la couleur se distingue difficilement toutefois de celle de ce milieu de culture. Il ne croît pas sur la pomme de terre. Dans les cultures on voit souvent des formes nettement bacillaires. Les cultures ne restent virulentes guère au-delà d'une trentaine de jours. En inoculant des lapins avec les organes des animaux malades, l'auteur leur avait déjà communiqué une maladie mortelle, très rapide, dans laquelle il n'avait pas constaté de notables lésions macroscopiques, sauf de l'hypérémie des tissus inoculés et quelques ecchymoses sur la plèvre et le péricarde. Inoculés avec les cultures, les lapins périssent très vite, généralement en 16 ou 18 heures. Les lésions sont les mêmes, quelquefois aussi l'auteur nota de l'œdème pulmonaire et une forte congestion des différents viscères. On retrouve les microorganismes dans le sang et dans le suc des organes. Les cobayes sont aussi sensibles à ce virus, mais moins que les lapins, car de 9 inoculations, 4 seulement furent suivies de mort. Une génisse de six mois, inoculée sous la peau de l'épaule antérieure, mourut en deux jours. Cet animal présenta à l'autopsie une infiltration séreuse dans le membre inoculé qui avait gagné la partie inférieure du cou, ainsi que les côtés et la région sternale. Il y avait également de l'œdème pulmonaire. Sur deux moutons inoculés, l'un mourut et l'autre résista. Les porcs se montrent aussi sensibles à l'action de ce microbe, de même que l'âne, le pigeon, la fauvette et le moineau. En revanche, le cheval, le chien, les poules et les grenouilles sont réfractaires.

A la suite de ses observations, l'auteur est tenté d'identifier cette

septicémie avec la pneumo-entérite du porc, d'autant plus que dans un cas récent qu'il a pu étudier, cette dernière maladie semble avoir été le point de départ de l'infection de l'étable. Nous devons avouer que bien des points nous paraissent encore obscurs et trop peu étudiés dans cette nouvelle maladie microbienne, aussi ne pouvons-nous que féliciter M. Piana d'entreprendre une nouvelle série de recherches comparatives sur sa septicémie et la pneumo-entérite du porc, dont il pense pouvoir nous communiquer prochainement les résultats.

E. F.

George Kuhnemann. — **Recherches bactériologiques sur la verrue** (*Monatshefte für praktische Dermatologie*, IX, n° 1).

L'auteur a rencontré dans toutes les verrues (*Verruca vulgaris*), un bacille si caractéristique qu'il n'hésite pas à le considérer comme le parasite spécifique, cause de cette affection. Pour les colorer, il laisse les coupes pendant 30 minutes dans la solution alcaline (1 p. 100 de carbonate d'ammonium) de violet de gentiane, les lave à l'eau, les traite ensuite par la solution de Gram pendant 3 minutes, décolore dans une solution alcoolique de fluorescéine et enlève l'excès de matière colorante par l'alcool absolu et l'huile d'œillet ou d'aniline. On voit alors dans le *Stratum dentatum*, tant entre que dans les cellules ainsi que dans les fentes lymphatiques, des bacilles excessivement minces, dont la longueur ne dépasse jamais 1,5 μ et dont la largeur est à la longueur environ comme 1 : 6. Avec cette méthode de coloration (Gram-Külhn) les bacilles sont rouges-clairs, tandis que les autres microorganismes se colorent en bleu foncé. Plus la verrue est jeune, plus les bacilles y sont nombreux.

M. Kühnemann aurait aussi réussi à les cultiver sur de la gélatine et de la gélose. La gélatine serait rapidement liquéfiée et se recouvre d'une pellicule. Des spores se forment à la température de la chambre. Ces caractères, on le voit, ont une grande analogie avec ceux de nombreux saprophytes vulgaires, aussi fera-t-on bien, avant de donner une place au bacille de M. Kühnemann parmi les microorganismes pathogènes, d'attendre le résultat des inoculations qu'il a l'intention de faire avec les cultures pures de son microbe.

E. F.

W.-L. Peters. — **Les organismes du levain et leur rôle dans la fermentation panaire** (*Botanische Zeitung*, XLVII, 1889, n°s 25, 26 et 27).

L'auteur décrit les différents microorganismes qu'il a réussi à isoler du levain. On y rencontre régulièrement 3 espèces de levures et

quelquefois une quatrième, 3 sortes de bactériums, et 2 espèces de bacilles. Aucun de ces microorganismes ne correspond absolument au bacille trouvé par M. Laurent et appelé par lui *Bacillus panificans*, mais les caractères de ce dernier se répartissent parmi les différents microbes cultivés par M. Peters, aussi celui-ci pense-t-il que M. Laurent n'a pas eu de cultures pures. La levure qu'on trouve le plus fréquemment consiste en petites cellules rondes, d'un diamètre d'environ 3,5 μ. Les colonies sur gélatine sont rondes au début, d'un quart de millimètre de diamètre, et s'élèvent plus tard au-dessus de la surface jusqu'à 1 millimètre. Elles font fermenter les solutions sucrées, en produisant de l'alcool et de l'acide carbonique. Cette espèce semblerait identique au *Saccharomyces minor* d'Engel.

Les cellules de la seconde espèce sont ovales, longues de 3-4μ et larges de 2,5-3μ. Leurs colonies sont, comme les premières, rondes au début, mais les ramifications qu'elles forment leur donnent des contours irréguliers. Elles s'élèvent quelquefois aussi au-dessus de la surface de la gélatine. Elles produisent une vive fermentation alcoolique dans les solutions de malt. Elles forment des spores déjà au bout de 17 heures et demie.

La troisième espèce que l'on trouve habituellement dans le levain est le *Mycoderma vini*.

Selon M. Peters l'action principale du levain serait une fermentation alcoolique, provoquée par les saccharomycètes, tandis que les processus de dissolution et de fermentation acide, dus aux bactéries ne viendraient qu'en seconde ligne. Nous pouvons, en conséquence, nous dispenser de décrire plus longuement les bactériums et bacilles isolés par l'auteur.

E. F.

BIBLIOGRAPHIE

Dr J. Pelletan. — **Les Diatomées**, 2 volumes in-8, avec 464 gravures dans le texte, et 10 planches. Chez l'auteur, 17, rue de Berne, Paris, 1889.

Le premier volume de l'ouvrage publié par M. J. Pelletan, contient onze chapitres pour la plupart consacrés à l'étude générale des diatomées : les premier donne l'historique du sujet, le second l'histoire naturelle des diatomées, les troisième, quatrième, cinquième, sixième et septième chapitres, traitent de la structure de ces algues et de la technique microscopique qui facilite leur étude, le huitième chapitre expose la classification de ces êtres, telle que M. Paul Petit l'a proposée et qui repose, on le sait, sur la disposition interne de l'endochrôme ; enfin dans les chapitres suivants, M. Pelletan commence la description des principales espèces.

Cette description occupe une bonne moitié du volume deuxième qui se termine par une liste précieuse des diatomées françaises dressée par un savant spécialiste bien connu, M. H. Peragallo et un index bibliographique très complet.

En somme, l'ouvrage dû à la plume féconde et élégante de notre confrère, comble une lacune importante ; en dehors de l'ouvrage (*Synopsis des diatomées de la Belgique*) écrit par notre collaborateur le Dr H. van Heurck, la littérature française ne possédait pas un traité récapitulatif sur les diatomées. A ce titre, le livre de M. J. Pelletan est appelé à rendre d'importants services, non seulement nous en conseillons l'achat à ceux de nos lecteurs, qui s'intéressent à l'histoire de ces algues élégantes, mais nous estimons qu'il doit trouver une bonne place dans la bibliothèque de tous les micrographes.

Dr M.

T. Dominguez. — **Estrana evolucion del bacilo coma**, 1 vol. de 149 pages avec 6 planches. Valladolid, 1889.

Ce livre récent contient une étude très soignée du Kommabacillus de Koch. Le Dr Dominguez consacre d'abord quelques pages à l'histoire de la bactériologie et aux diverses doctrines qui s'y rattachent. Dans un premier chapitre, il expose les généralités sur le choléra, la théorie de Koch, celles de ses adversaires; dans le chapitre troisième, il passe en revue la technique des procédés plus spécialement applicables à l'étude du microbe du choléra. Cette partie exposée avec clarté et concision mérite d'être remarquée. Les chapitres suivants contiennent les recherches personnelles de l'auteur qui portent sur les évolutions régulières et anormales du Kommabacillus, sur l'aspect habituel ou singulier de ses cultures, sur le pléomorphisme du spirille de Koch, etc., ces observations bien faites et décrites méthodiquement, révèlent un expérimentateur habile et consciencieux ; d'ailleurs cet ouvrage est à lire en son entier, car nous ne saurions faire valoir en quelques lignes tout le mérite du travail du Sous-directeur du Laboratoire de bactériologie de l'Assistance publique de Buenos-Ayres.

Dr M.

PUBLICATIONS RÉCENTES

PROTOPHYTES ET PROTOZOAIRES

Martinand. — Étude comparative des produits de fermentation des matières amylacées à l'aide de diverses espèces de levûres (*Journal de pharmacie et de chimie*, t. XIX, mai et juin 1889).

J. Mac Fayden. — The Morphology of the Actinomyces (*British medical journal*, juin 1889).

Elsenberg. — Ueber den Favuspilz (Sur le champignon de Favus) (*Arch. für dermatologie und syphilis*, 1889, p. 179).

Quincke. — Dappelinfektion mit *Favus vulgaris* und *Favus herpeticus* (Double infection avec le *Favus vulgaris* et le *Favus herpeticus*) (*Monastshefte für Prakt. Dermatologie*, *Bd* VIII, 1889).

Lindt. — Ueber einen neuen pathogenen Schimnepilz aus dem menschlichen Gehörgan (Sur une nouvelle espèce pathogène de champignon venant de l'oreille humaine) (*Archiv. für experment. Patho. und pharm.*, *Bd* XXV, 1889).

B. Carter. — Desmids : Their Life History and Their Classification (*The American monthly microscopical journal*, avril 1883).

A. Terry. — Motions of Certain Diatoms and Oscillaria (*The american monthly microscopical journal*, avril 1883).

P.-A. Dangeard. — La chlorophylle chez les animaux (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CVIII, p. 1313).

A. Rommier. — Sur la possibilité de communiquer le bouquet d'un vin de qualité à un vin commun en changeant la levûre qui le fait fermenter (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CVIII, p. 1322).

P.-A. Dangeard. — Étude du noyau dans quelques groupes inférieurs des végétaux (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CVIII, p. 202.

P.-A. Dangeard. — Sur la nouvelle famille des *Polyblepharidæ* (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CIX, p. 85).

BACTÉRIOLOGIE

De Beurmann. — Valeur antiseptique de l'iodoforme (*Journal de pharmacie et de chimie*, t. XIX, mai 1889).

Moniez. — Faune des eaux souterraines du département du Nord (*Revue biologique du Nord de la France*, mai 1889).

M. de Thierry. — Alcaloïdes microbiens et physiologiques (*Ptomaïnes et leucomaïnes*). Broch. in-8 de 166 pages, Paris, Masson, 1889.

Ed. Prillieux. — Les tumeurs à bacilles des branches d'olivier et du pin d'Alep (*Revue générale de botanique*, t. I, 15 juin 1899).

Dr V. Galippe. — Transport par un insecte de parasites infectieux (*Journal des connaissances médicales*, t. X, n° 32, août 1889).

Thoinot et Masselin. — Précis de microbie médicale et vétérinaire. Un volume in-8, 408 pages; G. Masson, Paris.

Dr Alexandre Peyer. — Zur Bacteriurie. Sur la bactériurie (*Correspondenzblatt für Schweizer Aerzte*, XIX, 14, p. 423).

Kartulis. — Zur Aetiologie der Cholera nostras hezon, des choleraähnlichen Erkraukungen. De l'étiologie du choléra nostras et des maladies cholériformes (*Zeitschrift für Hygiene*, VI. 1).

Rohrer F. — Die Morphologie der Bakterien des Ohres und des Nasen-Rachenraumes. La morphologie des bactéries de l'oreille et du pharynx (*Zürich, Meyer et Keller*, 1889).

Lubarsch. — Ueber die Behandlung der Metschnikoffschen Phagocyten für die Vernichtung der Milzbrandbacillenim Froschkörper. Du traitement des phagocytes de Metschnikoff pour la destruction de la bactéridie charbonneuse dans le corps de la grenouille (*Tagebl.* d. 64. *Versammlg. deutsch. Naturforscher u. Aerzte in Köln*, 1889, p. 84).

Hunermann. — Creolin als Mittel zür Tödtung pathogener Microorganismen. De l'emploi de la créoline pour détruire les microorganismes pathogènes (*Deutsche Militarzeitschrift*, 1889, p. 111).

Dr Gustav Klein. — Ueber einige Bacterienbefunde bei Leicheninfection. Sur les bactéries trouvées dans quelques cas de piqûres anatomiques (*Fortschritte der Medicin*, VII, p. 441).

Dr Hugo Bernheim. — Tshhenbüchlein für den bakteriologischen Praktikanten. Agenda du bactériologiste (Würzburg, Adalbert Stuber, éditeur, 1889).

Dr Fiedeler et Dr Bleisch. — Die Schweineseuche in Krzanowitz. La Pneumonie infectieuse du porc à Krzanowitz (*Archiv. für wissenschaftl, u. praktische Fhiesheilkunde*, XV, 5, p. 321).

Dr Tavel. — Das Bacterium coli commune als pathogener Organismus u. die Infection vom Darmcanal aus. Le *Bact. coli commune* comme organisme pathogène et l'infection par le canal intestinal (*Correspondenzblatt für schweizer Aerzte*, XIX, n° 13, p. 397).

Dr V. Babès. — Bemekungen über die Leitung des Wuthgiftes durch die Nerven. Observations sur la transmission du virus rabique par les nerfs (*Fortschritte der Medicin*, VII, 13, p. 485).

Prof. W. Podwyssozki jun. — Zur Terminologie in der Phagocytenlehre nebst einigen Bemerkungen über die Riesenzellenbildung. Sur la terminologie dans la doctrine phagocytaire avec quelques observations sur la formation des cellules géantes (*Fortschritte der Medicin*, VII, 13, p. 487).

Dr Behring. — Beiträge zur Aetiologie des Milzbrandes. Contributions à l'étiologie du charbon (*Zeitschrift für Hygiene*, VI, 34, p. 467).

Cadeac. — Contribution à l'étude de la pleuropneumonie du cheval. Broch. in-8, 33 pages ; Lyon, 1889.

Gueit. — Inoculation des liquides buccaux (*Archiv. de médecine expérimentale et d'anatomie pathologique*, mai 1889).

Massol. — Résistance des spores du charbon à la chaleur sèche (*Archiv. de médecine expérimentale et d'anatomie pathologique*, mai 1889).

Straus. — Essais de vaccination contre la morve (*Archives de médecine expérimentale et d'anatomie pathologique*, juillet 1889).

Straus et Wurtz. — De l'action du suc gastrique sur quelques microbes pathogènes (*Archives de médecine expérimentale et d'anatomie pathologique*, mai 1889).

Wurtz et Fourreur. — Culture des anaérobies (*Archives de medecine expérimentale et d'anatomie pathologique*, juillet 1889).

Rosenfeld. — Ein neuer Bacillus in Kommaform. Nouveau bacille-virgule (*Breslauer aerzt. Zeitsch.*, mai 1889).

Vanni.— Sulla péricardite sperimentale da pneumococco (*Sperimentale*, avril et mai 1889).

A. Carpentir. — Microbic life in sewer air. Vie microbienne dans l'air des égouts (*British medical journal*, juin 1889).

Gabbi. — Sull'artrite sperimentale dal virus pneumonico (*Sperimentale*, mai et juin 1889).

W. Lœwenthal.— Experimentelle Cholera-studien. Études expérimentales sur le choléra (*Deutsche medicin. Wochenscsh*, juin 1889).

G.-H. Roger — Des produits microbiens qui favorisent le développement des infections (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CIX, p. 192).

Dr Instjn Karlinski. — Zùr Kenntniss des Bacillus enteritidis Gärtner. Contribution à la connaissance du bacille enteritidis G. (*Centralbl. für Bakteriol, u. Parasith*, VI, p. 289).

Fazio, E. — I microbi delle acque minerali. Les microbes des eaux minérales (55 p. Naples, 1888).

Dr Ferd. Hueppe. — Leber die Giftigkeit der Cholera-Bacterien und die Behandlung der Cholera. Sur la virulence des bactéries du choléra et le traitement du choléra (*Deutsche med. Wochenschrift*, XV, p. 665).

Dr Ludwig Klein. — Botanische Bakterienstudien, Études botaniques sur les bactéries (*Centralbl. fur Bakteriol. u. Parasitenkunde*, VI, p. 313).

K. Hirschberger. — Experimentelle Beiträge zur Infectiosität der Milch tuberculöser Kühe. Contributions expérimentales concernant le caractère infectieux du lait des vaches tuberculeuses (*Deutsches archiw für Klinische Medicin*, XLIV, 1889, p. 500).

P. Grawitz. — Die Entwickelung der Eiterungslehre und ihr Verhältniss zur cellularpathologie. Le développement de la théorie de la suppuration et ses rapports avec la pathologie cellulaire (*Deutsche med. Wochenschrift*).

Justin Karlinsky. — O nowyclpogladack na etyjologie zapalenia ropnego. Des vues modernes sur la suppuration (*Przegald lekarski*, 1888, nos 33, 34, 35).

Justin Karlinsky. — Poszukiwania nad wpiuwem jodoformy na grzybki ropotworcze. Recherches sur l'action du jodoforme sur les microorganismes pyogènes (*Przeglad lekarski*, 1888, nos 48, 49, 50).

F. M. Oberlaender. — Ueber die praktische Bedeutung des Gonococcus. La valeur pratique du gonococcus (*Berliner Klinik*, n° 5, 1888).

Justin Karlinsky. — Przyczinekdo etyjologii posocznicy noworodkoro (Septicaemia neonatorum). Contribution à l'étiologie de l'infection puerpérale des nouveau-nés (*Nowing lekarskie, Posen*, n° 12, 1889).

A. Weichselbaum. — Bakteriologische Untersuchungen des Wassers der Wiener Hochquellenleitung. Recherches bactériologiques sur l'eau de Vienne (*Oesterreich. Sanitatswesen*, 1889, nos 14-23).

R. Kreibohm. Ueber das Vorkommen pathogener Mikroorganismen im Mundsecret. Sur la présence de microorganismes pathogènes dans la sécrétion buccale.

L'Éditeur-Gérant :

Georges CARRÉ.

Tours. — Imp. DESLIS FRÈRES

ANNALES

DE MICROGRAPHIE

SUR LA MORPHOLOGIE DES STREPTOCOQUES

PAR

Le Dr E. KLEIN, F. R. S.

Travail résumé par G. DOWDES-WELL.

Le dernier volume du *Report of the local Government Board, London* 1888, contient, dans un supplément consacré au compte rendu de l'officier médical pour 1887, un mémoire du docteur Klein, sur la morphologie et la biologie des streptococcus, qui, quoique fort court (10 pages), est de la plus haute importance pour l'étude des bactéries et du rôle qu'elles jouent dans la production des maladies.

M. le docteur Klein et ses élèves ont précédemment déjà publié des recherches démontrant qu'un streptococcus est le contage : 1° du piétin et de la surlangue ; 2° de la septicémie puerpérale ; 3° de la scarlatine. Ces conclusions ont été combattues par plusieurs qui, adoptant les vues de Baumgarten, Flügge et d'autres, ont émis l'opinion que les streptococcus trouvés dans ces maladies, appartenaient tous à la même espèce, savoir le streptococcus de Rosenbach et Ogston. Dans le mémoire que nous citons, M. le docteur Klein nous présente une série d'observations et d'expériences soigneuses à l'appui de son opinion conforme aux vues de Rosenbach et de Fehleisen et il conclut que ces microorganismes sont spécifiquement distincts et, que par des méthodes variées de culture, on peut arriver à distinguer 9 espèces différentes de streptococcus. Il maintient, en

outre, que ceux qui ont prétendu que les microbes décrits par lui comme appartenant à des espèces distinctes et comme les agents pathogènes des maladies susnommées, ne seraient qu'une seule et même espèce, les ont simplement confondus avec le streptococcus de Fehleisen, faute d'avoir suffisamment étudié les caractères de leurs cultures.

L'auteur résume les caractères de 9 espèces de streptococcus cultivés au moyen de sept méthodes différentes ainsi que les résultats de l'inoculation de chacun de ces microorganismes. Ce sont les organismes suivants :

Streptococcus A provenant d'un abcès aigu (*strept. d'Ogston*) ;

Streptococcus B provenant du piétin et de la surlangue ;

Streptococcus C provenant de la scarlatine humaine et des vaches d'Hendon ;

Streptococcus D provenant de la septicémie humaine puerpérale ;

Streptococcus E provenant d'une vache de Wittschire, n° 1 (1) ;

Streptococcus F provenant d'une vache de Wittschire, n° 2 ;

Streptococcus G provenant d'une vache d'Edimbourg et des veaux, n°s 1, 2 et 7 ;

Streptococcus H provenant de la même vache d'Edimbourg et du veau, n° 11 ;

Streptococcus I provenant du veau d'Edimbourg, n° 11.

Ces microorganismes furent examinés dans des cultures par stries et par piqûres sur gélatine et gélose, la gélatine étant tenue à 20°, la gélose à 35°, ainsi que dans des cultures de bouillon peptonisé, également tenues à 35°. Les milieux nutritifs étaient légèrement alcalins. Pour différencier les cultures les points suivants furent spécialement étudiés :

---

(1) Les vaches d'Hendon (C) appartenaient à une laiterie au lait de laquelle on avait pu rattacher l'éclosion d'une épidémie de scarlatine. Les vaches de Wittschire (E et F) faisaient partie d'un troupeau dans lequel une maladie éruptive du pis avait également infecté les laitiers chargés de la traite, maladie que quelques-uns ont déclarée être le véritable cow-pox et identique à la maladie de Hendon.

La vache et les veaux d'Edimbourg appartenaient à une laiterie dans laquelle une maladie avait éclaté parmi les vaches, et au lait de laquelle on avait pu rattacher une épidémie d'angines fébriles.

1° L'apparence et la croissance des cultures peu de jours après l'inoculation en stries sur gélatine nutritive, ou, quoique moins distinctif, sur gélose et sérum de sang ;

2° Le plus ou moins de rapidité de croissance des colonies inoculées par piqûres ou par stries sur milieux solides ;

3° La forme de ces colonies dans des cultures similaires ;

4° Les modifications de forme des colonies pendant leur développement ;

5° Leur aspect différent dans les cultures de bouillon ;

6° Leur aspect dans le lait ;

7° Leur morphologie.

En observant ces caractères M. Klein montre que les différentes espèces de streptococcus énumérées plus haut peuvent être distinguées les unes des autres à l'exception de C (scarlatine), D (septicémie puerpérale) et H (vache d'Edimbourg), dont les cultures se ressemblent beaucoup, mais qui se différencient alors nettement par leur action différente sur les rongeurs, moyen le plus important et le plus sûr pour différencier des espèces diverses. Sur ce point l'auteur cite les expériences de Fehleisen et Rosenbach que les expérimentateurs subséquents ont trop souvent oubliées, et note l'action de chacun de ces microorganismes sur ces animaux. Il note également le fait important que l'aspect des cultures dans le lait, tel qu'il le décrit, ne s'applique qu'aux streptococcus fraîchement obtenus du corps animal, attendu qu'après quelques générations tous ces caractères peuvent se perdre.

L'auteur traite aussi (p. 259) de la question de savoir ce qui constitue une espèce ou variété d'un microbe pathogène et de la possibilité d'une modification des espèces physiologiques ou pathogènes ; il paraît l'admettre mais préfère ne s'occuper de ce point spécial qu'en tant qu'il a trait aux présentes recherches. Ces observations font voir la grande difficulté qu'il y a de différencier des micrococcus d'espèces différentes et montrent combien la prudence s'impose quand il s'agit de conclure, en se basant sur un nombre limité de caractères, à l'identité spécifique d'organismes semblables par quelques points. Par ce travail l'auteur arrive donc non seulement à la conclusion, fort im-

portante à l'égard de la micro-pathologie, que la scarlatine, la septicémie puerpérale, et le piétin et la surlangue, sont dues chacune à un microorganisme spécifique, qui a été isolé et étudié, mais il fournit en même temps une contribution précieuse à l'étude systématique et pratique de la bactériologie, en nous montrant la nécessité de méthodes d'investigation plus étendues et plus variées que celles suivies jusqu'ici.

Il faut avouer que la variabilité de l'action distinctive de quelques-uns de ces organismes sur le lait après des générations successives (p. 265), tend plutôt à appuyer les vues de Naegeli et de son école, d'après lesquelles les différentes formes de schizomycètes ne seraient que les phases ou variations d'une même, ou au plus de deux ou trois espèces différentes. Cette question est fondamentale pour la mycologie pathologique, quoiqu'on la perde souvent de vue lorsqu'on s'adonne à des recherches particulières d'un caractère limité. Ces derniers temps la tendance générale semble être de partager les vues de Cohn et de Vrosh sur l'invariabilité et la constance des espèces bactériennes. Le fait, toutefois, mentionné par M. Klein que les streptococcus D (septicémie puerpérale), C (microbe de la scarlatine) et H (provenant d'une autre maladie), sont identiques par leurs caractères morphologiques et de culture, et qui permettrait certainement au point de vue de la morphologie systématique, de les considérer comme constituant une seule et même espèce, tandis que leur action physiologique et pathogène est différente, nous astreint à prendre en considération cette question de la constance des espèces et de la variabilité des fonctions.

Les résultats transcrits ici sont le produit d'un travail évidemment consciencieux et laborieux; aussi croyons-nous que tant que ces conclusions n'auront pas été réfutées par des recherches également soigneuses, on peut admettre que M. Klein en a fourni la preuve.

ÉTUDE SUR LA FERMENTATION AMMONIACALE

ET SUR LES FERMENTS DE L'URÉE (*suite*)

Par le Dr P. MIQUEL

---

§ III. — Description des espèces

Urobacillus Duclauxii *sive* **Bacillus ureæ** β

Il y a aujourd'hui plus de dix ans que j'annonçais dans une des séances de la Société chimique de Paris (1), l'existence d'un bacille grêle possédant de même que le micrococcus de M. Pasteur, la faculté de transformer l'urée en carbonate d'ammoniaque. Ce bacille fit l'objet d'une note complémentaire présentée quelques mois plus tard à la même Société (2).

Dans ces deux communications, je disais que cet organisme découvert dans les eaux d'égout était formé de filaments très grêles, atteignant à peine 0,7 à 0,8 μ, et différait essentiellement du micrococcus considéré jusqu'alors comme l'unique ferment de l'urée. J'indiquais en même temps les moyens faciles à mettre en œuvre pour l'isoler complètement de la torule ammoniacale (*Micrococcus ureæ*), et je terminais l'exposé de ces premières recherches en affirmant qu'en 48 heures ce nouveau bacille pouvait aisément hydrater toute l'urée des urines, et provoquer des fermentations beaucoup plus intenses, dans des solutions d'urée simplement additionnée d'un peu de gélatine.

Dans l'*Annuaire de Montsouris* pour l'année 1882, plusieurs pages furent consacrées à l'histoire de ce même

---

(1) *Bulletin de la Société chimique de Paris*, tome XXXI, page 391, mai 1879.
(2) *Bulletin de la Société chimique de Paris*, tome XXXII, page 126, août 1879.

organisme, dans lesquelles j'insistais sur la difficulté qu'on éprouvait à cultiver ce *Bacillus ureæ* dans le bouillon et les liqueurs exemptes de carbamide. Je ne refusai pas à ce microbe le caractère d'être anaérobie, puisqu'il pouvait à l'abri de l'air dans des vases d'urine pleins ou vidés à la pompe à mercure, produire l'hydratation souvent complète de ce liquide animal. Nous aurons à revenir sur ce point, car de nouvelles expériences exécutées avec les soins extrêmes que réclame la détermination de l'anaérobiose chez les ferments de l'urée semblent démontrer qu'en l'absence absolue d'oxygène, la végétation de cette espèce urophage devient impossible. Or, si je consulte les registres de mon laboratoire datant de 1878 et 1879, je constate que dans ces sortes d'essais, j'avais parfois considéré comme négligeable l'oxygène dissous ou adhérant aux parois des vases.

Par exemple, dans toute une série d'expériences, un bain de mercure stérilisé recevait des éprouvettes pleines d'urine stérilisée, et la fermentation était néanmoins complète en 48 heures. Dans d'autres séries de recherches, des tubes à boule contenant de l'urine, inoculée avec l'urobacille, étaient traversés pendant une heure par de l'hydrogène, du gaz à éclairage, de l'oxyde de carbone et de l'acide carbonique pur, et hermétiquement scellés, nonobstant en 48 heures, la fermentation se déclarait rapidement et se complétait en deux jours. Avec des vases vidés à la température ordinaire, il en était de même, ce n'est qu'en calculant le poids d'oxygène libre, nécessaire à la respiration des cellules, pouvant déterminer la fermentation complète d'un litre d'urine, qu'on peut trouver la clef des contradictions qui se sont présentées à moi dans mes études sur l'*Urobacillus Duclauxii ;* ce poids est inférieur à quelques milligrammes, aussi les procédés vulgaires d'absorption ou de déplacement de l'oxygène des solutions se montrent-ils ici totalement insuffisants.

Après les travaux de MM. Pasteur et Van Tieghem sur le *Micrococcus ureæ,* la découverte d'un bacille capable d'accomplir aisément la fermentation ammoniacale jointe à l'étude d'une moisissure susceptible de déterminer une hydratation semblable, élargissaient singulièrement le

champ restreint où se trouvait jusqu'alors circonscrit la fermentation de l'urée, non seulement ces faits démontraient qu'il existait plusieurs bactéries douées de la faculté de détruire la carbamide, mais que cette propriété appartenait encore à des champignons plus élevés dans l'échelle des végétaux. Cette faculté sans être devenue banale, apparaissait commune à plusieurs tribus de microphytes. La théorie unitaire, celle qui veut qu'à une espèce déterminée corresponde un acte biologique bien tranché, était à jamais renversée pour ce qui concerne la fermentation ammoniacale. Ce résultat de mes travaux, je le considérais comme un fait inédit dont personne ne pouvait s'attribuer la priorité. J'étais donc dans l'erreur, six années plus tard, Leube (1) retrouva mon *Bacillus ureæ*, et annonça cette découverte comme une nouveauté bactériologique, ce qui démontre certainement que ce savant était mieux renseigné sur les travaux publiés en Allemagne sur ce sujet, et qui, on doit l'avouer, n'avaient fait en rien avancer l'étude de la fermentation ammoniacale, que sur les recherches exécutées en France, et qui avaient au contraire éclairé d'un jour nouveau la biogénèse de l'ammoniaque. Je suis d'avis qu'on doit reléguer à un arrière-plan toutes les querelles de priorité ; cependant chaque branche des sciences a un historique, et il me paraît équitable que cet historique soit vrai, personne n'a le droit à dessein ou par ignorance, d'en altérer la sincérité. M. Leube en annonçant en 1885 l'existence d'un *Bacillus ureæ* méconnaissait donc que l'organisme qu'il indiquait comme nouveau était déjà bien connu en France, et se trouvait décrit dans de nombreux ouvrages. M. L. Marchand lui attribuait une place dans ses classifications de botanique cryptogamique (2), etc.

M. Duclaux, dont il me paraît tout aussi juste de lire le traité de fermentation que les *Archives de Virchow* ou les *Annales de Chimie* de Liebig accorde à mon premier *Bacillus ureæ* quelques lignes que je reproduis intégralement (3) :

---

(1) Leube, *Virchow arch.* Bd. 100 p. 540, 1885.
(2) L. Marchand, *Botanique cryptogamique*, page 259, 2 juillet 1883.
(3) Duclaux, *Chimie biologique*, p. 701. Dunod, 1883.

Autres ferments de l'urée. — M. Miquel a en effet observé et décrit deux autres espèces vivantes, capables de se développer dans l'urine, et de la rendre alcaline à la façon de la torulacée (*Micrococcus ureæ*), décrite plus haut.

L'un de ces êtres est un bacillus très ténu, dont la largeur est inférieure à 1 μ, qui se développe en longs filaments dans l'urine, en la rendant trouble, mais qui ne semble pourtant pas y trouver un terrain favorable, car au bout de quelques jours, il s'y dissocie, sans donner d'ordinaire des spores. Ses articles se remplissent de granulations punctiformes, incapables de produire une nouvelle fermentation. Les spores quand on en obtient, sont assez vivaces, et résistent plusieurs heures à une température humide de 96°.

Ce bacillus peut amener en quarante-huit heures la fermentation complète d'un volume quelconque d'urine. Il peut donc vivre dans un liquide fortement alcalin. Toutefois, il ne semble pas résister à cette réaction alcaline aussi longtemps que la torulacée de M. Pasteur, et c'est sans doute à l'action désorganisatrice du carbonate d'ammoniaque qu'il a fourni, qu'il faut attribuer en partie sa mort rapide dans les conditions que j'indiquais tout à l'heure.

Ce bacillus n'a pu être cultivé dans un liquide minéral ni dans un bouillon non additionné d'urée. Il est anaérobie, mais il peut aussi prendre naissance dans les liquides exposés à l'air. M. Miquel l'appelle *Bacillus ureæ*, mais la diagnose de cet être reste encore un peu incertaine.

Si M. Duclaux avait eu l'occasion d'examiner au microscope et à l'état de culture l'espèce que je lui dédie, je crois qu'il modifierait son opinion sur l'incertitude qui lui a paru encore planer sur la diagnose du premier urobacille que j'ai découvert. En effet, cette espèce se sépare par sa ténuité de tous les ferments de l'urée étudiés jusqu'ici. Un simple coup d'œil jeté sur une préparation d'urine ayant fermenté sous son action, suffit pour le faire reconnaître, tandis qu'il est loin d'en être de même pour l'*Urobacillus Pasteurii*, et pour les espèces analogues qu'il me reste à décrire. L'*Urobacillus Duclauxii* apparaît dans les cultures pures en nombre d'individus si restreint qu'on se demande tout d'abord comment un chiffre si faible des cellules a pu produire un phénomène d'hydratation aussi puissant et en même temps si complet. Le champ du microscope offre seulement quelques bâtonnets clair-semés d'une faible mobilité d'un aspect si particulier qu'étant donnée la

présence du carbonate d'ammoniaque dans la liqueur, et l'absence de bâtonnets d'épaisseur plus forte, la diagnose loin d'être incertaine, s'impose. Pour ma part, c'est le seul ferment de l'urée dont il me semble possible d'affirmer l'individualité au moyen de l'examen microscopique direct. En pourrait-on dire de même du *Micrococcus ureæ*, si voisin de forme d'une multitude d'espèces analogues ? je ne le pense pas, et tous ceux qui étudient les ferments de l'urée, notamment l'urocoque de MM. Pasteur et Van Tighem, gardent longtemps dans l'esprit le doute sur l'identité de l'espèce qu'ils croient être le *Micrococcus ureæ*, découvert par Pasteur, et celle qu'ils ont sous leurs yeux. La figure qu'en donne M. Duclaux dans son excellent *Traité de chimie biologique* (page 698), ne contribue pas peu à les maintenir dans l'indécision. Une phrase de M. Pasteur peut pourtant faire évanouir leur doute, elle est ainsi conçue : « Des chapelets de grains souvent très longs se forment fréquemment dans les urines. Il ne faut pas les confondre avec le ferment de l'urine, auquel ils ressemblent par le diamètre des grains. Le ferment de l'urée est formé de couples de grains, rarement et peut être toujours accidentellement joint en chapelets (1). » Cependant, M. Duclaux nous représente le *Micrococcus ureæ* en chaînes de 2 à 15 globules, il faut donc admettre que cette image n'a qu'une ressemblance lointaine et inexacte avec celle du microphyte entrevu par M. Pasteur.

Quant à l'*Urobacillus Duclauxii* dont je vais compléter l'étude, j'ai lieu de croire que si quelques lacunes ont pu se glisser dans son histoire, elles seront comblées dans les pages qui vont suivre, à la satisfaction des plus exigeants.

Habitat. — Cette espèce d'abord découverte dans l'eau d'égout, se trouve également répandue dans les eaux de rivière. Elle se rencontre plus rarement dans les eaux de source distribuées à Paris. Une goutte d'eau d'égout en renferme d'habitude une dizaine d'individus, et l'eau de la Seine puisée à Chaillot en montre ordinairement plusieurs

(1) Pasteur et Joubert, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. LXXXIII p. 5; 1876.

par centimètre cube. Au contraire, sous le volume de 50 et même de 100 centimètres cubes il est exceptionnel de rencontrer ce microbe dans l'eau de la Vanne à la bache d'arrivée du bassin de Montrouge, tandis que l'*Urobacillus Pasteurii* s'isole aisément de ces mêmes eaux. En revanche, cette espèce se rencontre très fréquemment dans les poussières atmosphériques.

Sur 100 cas de fermentation spontanée des urines normales par les corpuscules de l'air, l'*Urobacillus Duclauxii* en est 19 fois l'auteur. L'urine, qui dans ces essais fournit les résultats statistiques les plus élevés, est l'urine normale stérilisée à 110°. Les urines normales ou neutralisées stérilisées par filtration à la température ordinaire, donnent des chiffres plus faibles, ce qui tient au défaut d'alcalinité de ces liquides, dont les urocoques s'accomodent plus volontiers que les urobacilles. Je n'ai pas employé les urines artificielles dans ces travaux qui datent de 8 à 9 ans, il est présumable qu'elles se prêteraient encore mieux que les urines animales, à ces expériences sur la recherche dans l'air des ferments de l'urée.

L'espèce qui nous occupe se rencontre de même très fréquemment dans les dépôts qui s'incrustent, malgré un lavage incessant, sur l'ardoise des urinoirs publics, enfin j'ai pu encore la découvrir non seulement dans les eaux de vidange (eau de refoulement du dépotoir de l'Est), mais dans ces mêmes eaux traitées par la chaleur à l'usine de Bondy, et qui renferment encore une moyenne de 30.000 bactéries par centimètre cube ; c'est dire que ce ferment est très vulgaire, qu'il suffit de vouloir le chercher pour le trouver presqu'à coup sûr, c'est pour cette raison qu'il a un des premiers attiré mon attention, et sept années plus tard, celle de M. Leube.

Propriétés physiologiques de l'Urobacillus Duclauxii. — Quand on sème ce microbe dans une conserve d'urine normale stérilisée à 110° qu'on expose à 30°, la fermentation est généralement très avancée au bout de 24 heures, assez rarement cependant elle est trouvée complète, ce qui doit être attribué à la lenteur du rajeunissement du microbe, et à la marche relativement peu rapide de l'hydratation de l'urée, si on la compare à celle que nous avons

trouvée pour l'urobacille précédent. Tout bien considéré, l'*Urobacillus Duclauxii* ne réclame pas une durée d'incubation de beaucoup supérieure à celle de l'*Urobacillus Pasteurii*, mais il hydrate dans le même temps deux fois moins d'urée que ce dernier microorganisme et c'est là la cause du retard observé.

Urine normale stérilisée à 110°

Essais	Temps	Urée disparue par litre	Essais	Temps	Urée disparue par litre
1	24 heures	15gr 5	9	24 heures	3gr 6
2	»	13 2	10	»	17 7
3	»	16 7	11	»	20 1
4	»	1 2	12	»	10 3
5	»	18 9	13	»	7 7
6	»	11 6	14	»	9 8
7	»	13 8	15	»	15 4
8	»	14 7	16	»	16 8

Dans les 16 essais qui viennnent d'être rapportés, la fermentation n'a été trouvée complète que 3 fois (essais 5, 10 et 11), elle s'est montrée très avancée 9 fois (essais 1, 2, 3, 6, 7, 8, 12, 15 et 16), peu avancée 3 fois (essais 9, 13 et 14), et enfin nulle une seule fois (essai 4).

Les urines artificielles contaminées par le même microbe, fermentent dans un laps de temps plus court, néanmoins on observe encore de nombreux cas où la fermentation ne s'achève pas en 24 heures.

Urine artificielle chargée de 20 *grammes d'urée par litre*

Essais	Temps	Urée disparue par litre	Essais	Temps	Urée disparue par litre
1	24 heures	19gr 5	11	24 heures	18gr 1
2	»	19 6	12	»	19 7
3	»	18 8	13	»	19 6
4	»	19 5	14	»	13 4
5	»	17 4	15	»	1 2
6	»	10 8	16	»	19 8
7	»	19 7	17	»	19 7
8	»	19 8	18	»	16 5
9	»	11 4	15	»	19 8
10	»	1 3	20	»	19 8

Ainsi, sur 20 cas de fermentation d'urine artificielle, provoquée au moyen de l'*Urobacillus Duclauxii*, 7 fois la fermentation n'était pas terminée après un séjour de 24 heures de temps à 30° (essais 3, 5, 6, 9, 14 et 18), 12 fois au contraire elle était complète, et 2 fois elle n'avait pas débuté (essais 10 et 15).

En élevant la température des urines, on obtient de meilleurs résultats, l'hydratation marche plus vite ainsi que j'ai pu le constater en plaçant simultanément à 30 et 40° des vases d'urine artificielle identiques, identiquement ensemencés. Pour apprécier avec plus de netteté les retards qui se remarquent à 30° au bout de 24 heures, la précaution avait été prise de porter l'urée des urines artificielles de 20 à 25 grammes par litre, de façon que dans la majeure partie des cas les fermentations fussent incomplètes à 30° après l'attente d'un jour.

Urine artificielle chargée de 23 grammes d'urée par litre

Essais	Urée disparue par litre en 24 heures	
	à 30°	à 40°
1	17 gr 3	24 gr 9
2	21 4	24 9
3	21 3	24 8
4	8 2	24 9
5	24 8	24 8
6	1 2	24 7
7	11 7	22 5
8	10 6	24 9
9	16 8	4 3
10	17 9	23 6
11	24 9	24 9
12	18 3	24 8

Sur les 12 essais pratiqués à 30°, 2 fois seulement la fermentation a été trouvée complète (essais 5 et 11).

Sur les 12 essais effectués à 40°, 9 fois la totalité de l'urée avait disparu dans les urines et 3 fois un retard plus ou moins considérable s'est manifesté dans le phénomène de l'hydratation de la carbamide (essais 7, 9 et 10).

Si l'on porte le poids de l'urée des urines à 40 grammes par litre, la fermentation dans les conditions normales, exige environ 72 heures.

Urine artificielle chargée de 40 grammes d'urée par litre

Temps	Urée disparue par litre				
	I	II	III	IV	V
Après le 1er jour	8gr5	5gr3	9gr4	1gr5	10gr4
» le 2me »	29 9	23 7	17 8	3 8	30 3
» le 3me »	39 6	39 7	36 6	35 2	39 8

Un espace de temps de 3 jours assure donc habituellement la transformation de 40 grammes d'urée en carbonate d'ammoniaque, mais cette affirmation n'a pas, comme on le voit, une valeur absolue.

Dans les bouillons chargés de 100 grammes par litre, le phénomène de l'hydratation de l'urée ne se complète jamais à 30°. Cependant cette hydratation est assez avancée pour placer l'*Urobacillus Duclauxii* au rang des ferments très énergiques.

Urine artificielle chargée de 100 grammes d'urée par litre

Temps	Urée disparue par litre			
	I	II	III	IV
Après 1 jour	2gr0	»	3gr5	1gr9
» 2 »	8 6	»	13 9	»
» 3 »	35 1	16gr4	»	4 6
» 4 »	66 0	»	41 1	15 7
» 5 »	89 2	33 7	»	45 3
» 6 »	»	»	64 3	51 8
» 7 »	92 8	»	»	»
» 8 »	92 8	84 6	78 5	67 1
» 9 »	»	84 6	»	74 6
» 10 »	93 0	»	78 3	74 9

Les fermentations I et III représentent les types réguliers d'une hydratation accomplie dans de bonnes conditions. L'espèce peu active durant le premier et le second jour, agit très énergiquement les jours suivants, et au bout de

7 à 8 jours, tout le travail utile dont est capable l'urobacille est produit, la conversion de l'urée en carbonate d'ammoniaque cesse; dans la fermentation II, et surtout dans la fermentation IV, le retard dans la mise en train est remarquable ; en 4 jours, c'est à peine si le bacille a déterminé la production d'une quantité de carbonate d'ammonium égale à celle dont il détermine la formation en 18 à 20 heures, dans les urines chargées de 20 grammes d'urée. Ces retards, je crois l'avoir déjà dit, sont surtout dus à l'action toxique qu'exerce l'urée sur ses propres ferments, et peut être aussi sur l'urase, car j'ai pu acquérir la certitude que l'urase est entravée dans son action par l'urée elle-même ; toute chose égale d'ailleurs, un même poids d'urase transformera plus vite un poids donné d'urée dans une solution à 5 p. 100 qu'à 10 p. 100 d'urée dans l'eau distillée, des doses plus élevées ralentissent son action encore bien davantage ; donc comme pour les ferments figurés, un excès d'urée devient toxique pour le ferment soluble, qui jouit de la propriété de l'attaquer et de la détruire.

De même que toutes les espèces organisées, ensemencées en faible quantité dans un volume de liquide relativement élevé, l'*Urobacillus Duclauxii* a besoin d'un temps d'incubation assez long, nécessaire à sa reviviscence, et à son adaptation au milieu où on l'introduit. L'espèce doit donc commencer par germer et croître dans l'expression botanique du mot, puis se multiplier et sécréter le suc semi-vivant organique, mais non organisé appelé diastase. Toutes ces opérations préliminaires exigent du temps, l'hydratation de l'urée se manifeste dès que les agents physiques qui détruisent la diastase, oxygène, lumière, etc., en laissent un excès se répandre dans la liqueur. Aussi, moins les ferments produisent de la diastase, et plus lente est l'apparition du carbonate d'ammoniaque ; bien que la végétation du microbe ne laisse rien à désirer. Cela est si vrai, que en exagérant les causes physiques de destruction de l'urase, on voit les ferments non actifs croître en cellules, mais se montrer incapables de toucher à l'urée. C'est, si je ne me trompe, une nouvelle preuve que la nu-

trition du microbe n'est pas liée intimement dans la fermentation de l'urée.

Avec l'*Urobacillus Duclauxii*, l'équilibre entre la production et la destruction de l'urase par les agents naturels qui peuvent influencer les cultures, s'établit rapidement. Une dizaine d'heures après l'ensemencement, l'urase se produit en excès, et l'hydratation débute d'abord lentement, puis suit une marche uniforme jusqu'à épuisement de la carbamide.

Les quatre expériences suivantes choisies parmi celles dont les concordances horaires sont fort voisines, nous permettent d'établir la rapidité de la fermentation par l'urobacille qui nous occupe.

Urine artificielle chargée de 20 grammes d'urée par litre

Heures des dosages	Urée disparue à :											
	I		II		III		IV		Moy.		Différence	
8 heures du matin	5 gr	4	4 gr	8	»		»		5 gr	1	»	
9 »	6	3	6	0	»		6 gr	1	6	1	1 gr	0
10 »	7	6	7	3	»		7	2	7	4	1	3
11 »	9	3	8	6	9 gr	0	9	5	9	1	1	7
Midi »	10	9	10	1	10	4	11	0	10	6	1	5
1 heure du soir	12	7	11	9	12	8	12	4	12	4	1	8
2 »	14	1	13	6	14	3	13	7	13	9	1	5
3 »	15	5	15	3	15	7	15	4	15	2	1	6
4 »	17	1	16	7	»		16	9	16	9	1	4
5 »	18	5	18	2	»		»		18	3	1	4

Comme on voit, une fermentation bien en train marche avec une rapidité correspondant à la décomposition de 1 gr., 5 à 1 gr., 6 d'urée par heure, c'est là un caractère sur lequel il est nécessaire d'insister, car en dehors des caractères morphologiques, l'*Urobacillus Duclauxii* se sépare dès maintenant de l'*Urobacillus Pasteurii* deux fois plus actif, et d'autres espèces bacillaires dont l'action est singulièrement plus lente.

J'ai eu la curiosité de rechercher si dans les urines fortement chargées d'urée la rapidité de l'hydratation était considérablement ralentie, l'expérience a répondu négati-

vement, il existe bien une atténuation dans cette rapidité, mais elle est surtout sensible au début et à la fin de la fermentation.

Urine artificielle chargée de 100 *grammes d'urée par litre*

Dates	Heures	Urée disparue par litre	Différence
15 janvier 1889	midi	2 gr 0	»
17 » »	midi	8 6	»
» »	1 heure	9 7	1 gr 1
» »	2 heures	10 8	1 1
» »	3 »	11 8	1 0
18 » »	midi	35 1	»
» »	1 heure	36 5	1 4
» »	2 heures	38 0	1 5
» »	3 »	39 4	1 4
» »	4 »	40 7	1 3
19 » »	11 »	66 0	»
» »	midi	67 4	1 4
» »	1 heure	68 7	1 3
» »	2 heures	70 1	1 4
» »	3 »	71 4	1 3
20 » »	midi	89 2	»

L'espèce qui nous occupe doit donc être rangée parmi les ferments très actifs ; son action fort lente pendant les premiers jours dans les milieux fortement chargés d'urée, s'accélère les jours suivants, et se traduit par l'hydratation de 1 gr., 4 environ d'urée par heure, alors même que la quantité de carbonate d'ammonium répandu dans la liqueur atteint 8 à 10 p. 100.

La capacité fermentaire de l'*Urobacillus Duclauxii* ne dépasse pas 95 grammes d'urée par litre. En cultivant ce microbe dans des vases scellés de bouillon chargé de 50 grammes d'urée par litre, ordinairement toute l'urée est hydratée en 3 à 4 jours, si cette dose est portée à 100 grammes, la disparition de la carbamide n'est jamais complète, je dois ajouter de plus que le rajeunissement de l'espèce devient incertain, et que la quantité de carbonate d'ammoniaque produit est très variable.

Teneur du bouillon en urée	Urée disparue par litre											
	I		II		III		IV		V		VI	
Bouillon à 50 gr.	49 gr	3	49 gr	6	49 gr	2	49 gr	4	49 gr	2	49 gr	7
» à 75 »	73	5	1	9	74	6	74	3	63	8	74	9
» à 100 »	79	8	93	3	48	5	1	8	86	5	88	8
» à 125 »	64	3	1	9	1	9	15	6	4	7	18	6
» à 150 »	2	0	13	4	2	2	3	8	2	5	11	4
» à 300 »	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

Les exemples qui précèdent montrent en effet, combien ces chiffres sont sujets à de grandes variations, et combien ces sortes d'expériences doivent être multipliées pour pouvoir en déduire des résultats moyens.

En somme, ces essais sont suffisamment nombreux pour établir que l'*Urobacillus Duclauxii* possède une rapidité d'action se traduisant dans les conditions normales spécifiées, par l'hydratation de 1 gr., 5 d'urée à l'heure, et par une capacité fermentative voisine de 80 grammes, à 90 grammes d'urée dissoute par litre de bouillon peptonisé. Ces chiffres posent les bases solides d'un diagnostic différentiel entre cette espèce et celles que nous aurons à étudier.

(*A suivre.*)

LES APPAREILS DE MICROGRAPHIE

A L'EXPOSITION UNIVERSELLE DE 1889

I. Maison Nachet, 17, rue Saint-Séverin, Paris.

L'exposition de cette maison, l'une des plus recommandables de France, se trouve dans le pavillon des arts libéraux et possède sans partage une vitrine remarquablement belle et bien garnie.

D'abord pour ne parler que des microscopes, nous distinguons un microscope grand modèle, à platine tournante et à chariot mobile, monté sur deux colonnes. A côté de cet instrument, se remarquent des modèles plus simples et moins coûteux, destinés aux travailleurs qui ne peuvent se passer le luxe d'un appareil d'un prix élevé.

Le microscope grand modèle de pétrographie, de la même maison, nous paraît devoir être considéré comme un véritable chef-d'œuvre de mécanique et de précision ; malgré la complexité apparente de ses organes, c'est au fond un instrument d'une grande simplicité, mais qu'il serait assurément regrettable de faire servir aux études courantes de bactériologie. D'ailleurs, nous apercevons divers microscopes de moyen modèle qui, munis d'un bon objectif à immersion homogène, suffisent amplement pour la pratique courante.

La maison Nachet nous paraît être la seule qui ait exposé des microscopes renversés pour l'étude commode des réactions microchimiques, et qui, soit dit en passant, nous paraissent devoir rendre de grands services, pour examiner et suivre le développement des colonies bactériennes, des algues, des champignons, enfin de toutes les espèces vivantes végétant sur la paroi inférieure des cellules de verre usité pour les cultures microscopiques, ou dans des tranches de quelque épaisseur de substances solides ou liquides.

Nous passerons rapidement sur les modèles de micros-

copes dits portatifs, de voyage, de démonstration sur les binoculaires et à plusieurs corps, ces derniers si difficiles à s'acclimater en France, dont l'utilité n'est pas à dédaigner dans un certain nombre de cas, mais qui ne vaudront jamais l'instrument de travail installé à poste fixe dans de bonnes conditions de stabilité et d'éclairage.

Viennent ensuite les appareils photomicrographiques. Le premier, bien connu, est à chambre noire verticale, mais il se trouve pourvu d'un système optique nouveau, permettant de photographier instantanément les objets mobiles, tels que les infusoires vivants et de surprendre au moment désiré, ces animaux microscopiques dans les positions les plus favorables à leur étude, ou les diatomées, les desmidiées, les conferves pendant leur croissance, et les phases successives encore très mystérieuses qui président à leurs noces et à leur multiplication. Avec ce nouvel appareil, on suit au moyen d'un tube oculaire ordinaire les diverses parties de la préparation et, à l'instant choisi ou souhaité, la manœuvre instantanée d'un prisme permet de projeter l'image aperçue par l'observateur, sur la glace sensible. Tout cela nous paraît fort ingénieux et également très pratique. Que signifie ce tube coudé que présente latéralement la même chambre noire? On peut supposer que cet appendice sert à chercher, ou à mettre au point sur la glace dépolie ou l'écran, les parties de la préparation qu'on désire photographier ; quoiqu'il en soit, nous envions le sort des membres du jury qui sont appelés à admirer de près, à manier ces appareils et à recevoir des constructeurs les explications les plus complètes sur leurs divers organes. Quant à nous, profanes, nous nous mouvons autour de la vitrine, comme autour d'une cage remplie de reptiles au venin puissant et dangereux.

J'oubliais de signaler chez MM. Nachet et fils, un autre appareil micrographique à chambre noire horizontale et à soufflet, possédant un système optique permettant de projeter à volonté à angle droit au moyen d'un prisme à réflexion totale les rayons lumineux dans un tube oculaire chercheur, ce qui facilite l'examen de la préparation.

En somme, comme on devait s'y attendre, la vieille réputation de la maison Nachet de Paris, gagne encore à cette

nouvelle exposition des instruments fabriqués par elle avec luxe, élégance, solidité et précision. Nos félicitations à cette maison française qui a marché sans cesse dans la voie du progrès, qui a lutté et lutte toujours efficacement contre l'invasion des microscopes exotiques, et saura encore pendant de longues années prodiguer aux sciences micrographiques, les services nombreux qu'elle n'a cessé de leur rendre depuis plus d'un demi-siècle.

II. — Maison Vérick, 43, rue des Écoles, Paris

Maison solide et consciencieuse qui a pour devise : travail opiniâtre et progrès. Maison fondée en France depuis vingt ans et qui a su acquérir tout d'abord une importance que personne ne songe à lui contester.

De même que les microscopes de la maison Nachet et fils, les microscopes construits par M. Vérick sont très estimés et se trouvent répandus dans la plupart des laboratoires français. Nous en avons trouvé à la Sorbonne, au Collège de France, à la Faculté de médecine, à l'Institut Pasteur, etc., ils sont donc fort connus, ce qui nous évite d'en donner la description ; un peu plus massifs et moins élancés que les Nachet, ce qui tient à la forme carrée du pied et de la platine; les grands et moyens modèles sont munis d'une crémaillère pour les mouvements rapides et possèdent une platine à rotation, entraînant ou non le corps du microscope, la partie mécanique de ces instruments ne laisse rien à désirer; depuis quinze ans nous en possédons un (modèle Ranvier) qui se trouve encore aujourd'hui dans un état de conservation parfaite malgré les voyages et les chocs inévitables auxquels il a été soumis durant une pratique journalière. Les nouveaux modèles de cette maison ont reçu quelques modifications heureuses, principalement sous le rapport des parties accessoires de l'éclairage. On peut être certain d'ailleurs que M. Verick ne laisse passer aucune occasion de perfectionner ses instruments ; cette remarque s'applique surtout aux objectifs. Les objectifs à immersion homogène que cette maison livre depuis quelques années à ses clients, notamment le 1/10, 1/12 et 1/18 de pouce supportent très aisément

la comparaison avec les objectifs étrangers, nous parlons de ceux qui ont acquis un renom mérité, tels que les objectifs de Powell et Lealand de Londres, de Zeiss d'Iéna, dont les prix sont malheureusement si élevés, que leur achat n'est à la portée que des laboratoires bien dotés, ou des amateurs fortunés entre les mains desquels ils s'abîment, souvent s'ils ne reposent pas éternellement dans les écrins. Mais les travailleurs, ceux qui pourraient en user au profit de la science ne peuvent songer à de semblables acquisitions ; force leur est d'en acheter à des prix abordables ; le 1/12 de pouce à immersion homogène de M. Vérick est appelé à leur prêter un secours précieux dans les études bactériologiques les plus diverses.

A côté des microscopes, nous apercevons un appareil photomicrographique à chambre noire horizontale glissant sur un banc de fonte ou de fer. Sa construction nous paraît bien comprise en ce sens que l'un des plus graves défauts de ces sortes d'appareils, celui qui tient aux vibrations accidentelles, est éliminé du moins en grande partie par ce dispositif. Ce modèle a été construit, croyons-nous, sur les conseils du Dr E. Roux dont on connait les photomicrographies belles à tous égards et remarquablement exécutées. La partie optique de cet appareil peut être le premier microscope venu à la condition de posséder un mouvement de charnière et la hauteur admise généralement pour les microscopes français et allemands. Le microscope choisi est fixé en avant sur une plaque tournante encastrée dans le plancher métallique inférieur et prolongé de la chambre noire ; on examine la préparation à la manière habituelle, dans la position la plus favorable ; la partie à photographier une fois trouvée, on tourne le microscope un peu en avant de façon à le rendre symétrique par rapport au plan médian vertical de la chambre, on le fait basculer en arrière, on adapte son tube à la chambre noire, puis il reste à éclairer la préparation, à mettre l'image au point sur la glace dépolie et enfin à la recevoir et à la fixer sur la plaque sensible.

Nous ne parlerons pas des instruments accessoires fabriqués par M. Vérick, ils sont, comme tous les objets qui sortent de ses mains, exécutés avec beaucoup de soins et ne laissent rien à désirer.

REVUES ET ANALYSES[1]

A. Certes. — Mission scientifique du Cap Horn 1882-1883. T. VI. (*Zoologie*, 1889.)

C'est une tâche ingrate et pénible que celle d'étudier la faune d'un pays lointain sur des échantillons rapportés par des explorateurs, mais c'est surtout lorsqu'il s'agit de déterminer les êtres si fragiles et si altérables qui constituent la classe des Protozoaires que les difficultés s'accumulent devant l'observateur. L'auteur ne s'est pourtant point laissé arrêter par ces considérations ; il a d'une part observé avec patience les sédiments qui pouvaient contenir des parties solides — tests de Rhizopodes et de Radiolaires — et d'autre part grâce au pouvoir de reviviscence de nombreuses formes il a pu les rendre à la vie et les étudier à l'état d'activité. Enfin certains échantillons fixés à l'acide osmique lui ont permis de retrouver et d'ajouter à sa liste quelques-unes de nos formes européennes.

Le point le plus intéressant du travail de M. Certes — à part les formes nouvelles sur lesquelles nous reviendrons tout à l'heure — est la confirmation de l'ubiquité des Protozoaires d'eau douce. Les observations de Carter dans l'Inde, de Leidy, Stokes en Amérique tendaient déjà à montrer que les espèces les plus communes des eaux européennes se retrouvent dans celles des autres continents. Or M. Certes retrouve également au Cap Horn le *Paramœcium aurelia*, le *P. colpoda*, deux espèces fort communes partout et qui cependant ne possèdent point le pouvoir d'enkystement par lequel s'expliquerait facilement leur dispersion. Il en est de même des Infusoires d'eau de mer que l'auteur a retrouvés dans des échantillons fixés à l'acide osmique.

Les Rhizopodes, grâce à l'enveloppe siliceuse ou calcaire d'un grand nombre d'entre eux ont pu être étudiés d'une façon beaucoup plus complète. Parmi les *Difflgia* l'auteur a rencontré les

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales micrographiques* seront analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

D. pyriformis, *globulosa*, *vas*, *acuminata*, *corona*, *urceolata*, *constricta*, *lobostoma* et *arcula*, toutes formes signalées dans la plupart des continents.

Les *Nebela*, Rhizopodes testacés sont dans ce travail l'objet d'une étude très complète ; indépendamment de la *N. collaris* l'auteur signale trois nouvelles espèces *N. Martiali*, *vas* et *Fabrei* (1) dont les caractères nettement tranchés s'écartent de ceux des espèces connues jusqu'ici.

Deux espèces nouvelles de *Trinema*, les *T. Sauvineti* et *constricta* viennent s'ajouter à la *T. acinus* très abondante au Cap Horn. Enfin le *Centropyxis Magdalenæ* dont l'étude sera reprise ultérieurement et publiée dans le *Bulletin de la Société zoologique de France* se trouve fréquemment à côté de l'espèce américaine *C. ecornis*. Plusieurs espèces d'*Amibes* d'*Euglyphes*, de *Hyalosphænia* déjà observées en Europe complètent la liste des Protozoaires du Cap Horn.

La deuxième partie du travail de M. Certes porte sur les sédiments résultant des draguages de la *Romanche* exécutés en 1883 dans le voisinage du Cap Horn et durant le voyage. Il nous est impossible de passer en revue toutes les formes étudiées par l'auteur ; nous devons pourtant signaler le genre *Cadium* jusqu'ici peu connu et dont de nombreux échantillons ne sont retrouvés dans les sédiments. Les *Cadium* représentent en effet une forme intermédiaire entre les Rhizopodes d'eau douce à test imperforé et certains foraminifères uniloculaires. Deux nouvelles espèces viennent prendre place à côté du *C. marinum* étudié par Wallich en 1869, le *C. Fischeri* et le *C. Schlumbergeri*.

En ce qui concerne les Radiolaires rapportés par *la Romanche* l'auteur s'est borné à décrire les quelques formes nouvelles qui semblent avoir échappé à Hackel ; nous citerons *Hymeniastrum Hyadesi*, *Spongocore Castracanei Phormobotrys Folini* et *Challengeron Edwardsi*.

En résumé le travail de M. Certes très consciencieusement fait, malgré l'imperfection des matériaux, imperfection devant laquelle plus d'un eût reculé, met en lumière l'ubiquité des Protozoaires et porte de nombreuses preuves à l'appui de cette théorie.

F. D.

A. Certes. — Note sur les microorganismes de la panse des ruminants (*Bulletin de la Soc. Zoologique de France*, T. XIV, p. 70, 9 avril 1889.)

Cette note porte sur deux points principaux : la présence du glycogène dans le plasma des Infusoires parasites des Ruminants et

(1) Nous saisissons ici avec empressement l'occasion qui nous est offerte de remercier M. Certes qui a bien voulu attacher notre nom à cette élégante *Nebela*.

l'existence en nombre considérable dans la panse de ces animaux d'organismes inférieurs, microbes ou levures qui auraient un rôle prépondérant dans la digestion des aliments.

Dans la panse des chevreuils des environs de Paris M. Certes a trouvé : une petite espèce d'*Ophryoscolex* (37 μ de longueur), un petit flagellé auquel il donne le nom *Ancyromonas ruminantium* et enfin une levure particulièrement intéressante. Cette levure se présente sous forme de cellules de 8 à 10 μ de longueur ovoïdes, incolores et transparentes. Certaines d'entre elles présentent un globule central réfringent et un protoplasma granuleux (sporulation). L'auteur estime, d'après les calculs faits au compte-globules de Malassez, le nombre de ces cellules à 9.500.000 par centimètre cube de masse alimentaire.

Conservée à l'abri des germes de la putréfaction la masse alimentaire des chevreuils ne subit point de fermentation putride, mais est souvent envahie par les moisissures. Nous pensons que ce dernier fait peut être expliqué par l'acidité du milieu.

F. D.

Mallory, Rafter et Line. — **Sur le Volvox globator comme cause du gout de poisson et de l'odeur de l'eau du lac Hemlock en 1888** (*Annual Report of the Executive Board of the City of Rochester*, 1889).

Une algue uni cellulaire relativement rare se développant avec une intensité extraordinaire et montrant alors une propriété qu'on ne lui avait jamais soupçonnée, tel est le cas que signalent les auteurs de ce travail. Il résulte de leurs expériences que l'eau du lac avait une odeur et un goût d'autant plus prononcés qu'elle contenait plus de Volvox, que ce goût et cette odeur ne se sont développés qu'au fur et à mesure de l'apparition des Volvox dans les diverses régions du lac.

Les conclusions des auteurs de ce travail nous semblent un peu hâtives; l'on sait que certains êtres microscopiques exhalent une odeur parfois très nette et très appréciable ; rien ne s'oppose donc à leur manière de voir, mais la présence des Volvox n'était-elle pas due elle-même à la mauvaise odeur de l'eau?

F. D.

A. Giard. — **Sur l'Infection phosphorescente des Talitres et autres Crustacés** (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CIX, n° 13, sept. 1889, p. 503-506).

La phosphorescence des Talitres n'est pas toujours due à la présence sur leurs téguments de noctiluques abandonnées par la mer

sur le sable de la plage. Le 5 septembre dernier l'auteur rencontra un Talitre extrêmement phosphorescent qu'il examina de plus près ; l'animal était entièrement lumineux jusqu'au bout des pattes et des antennes. L'examen au microscope montra dans les tissus du Talitre un nombre considérable de bactéries. Il s'agissait donc là d'un cas de parasitisme. Des inoculations pratiquées avec le sang du Talitre lumineux sur d'autres individus non infestés et sur des Orchesties donnèrent des résultats absolument probants.

L'auteur a continué ses séries d'inoculations sur ces deux espèces ; il conserve les individus inoculés dans de petits cristallisoirs couverts contenant du sable humide et placés dans un lieu frais, et au moment de la publication du présent travail il possédait des Talitres de sixième génération lumineuse.

Cette inoculation présente une particularité très intéressante ; la bactérie étant lumineuse on suit sur l'animal inoculé les progrès de l'envahissement. Au début le point piqué est seul lumineux ; après quarante-huit ou soixante heures, tout le corps est phosphorescent ; l'éclat vert brillant ne se produit qu'après le troisième ou le quatrième jour.

D'autres crustacés, *Hyale Nilssoni*, *Ligia Oceanica* se laissent aussi inoculer mais plus difficilement; enfin les Crabes, *Carcinus mœnas*, *Platyonychus latipes* présentent des phénomènes plus complexes que l'auteur étudiera plus tard.

F. D.

P. A. Dangeard. — **Mémoire sur les Algues** (*Le Botaniste*, 1e série, 4e fasc.).

Ce mémoire comprend une introduction à l'étude des Algues inférieures et des remarques sur six familles de ces Algues.

Dans la première partie, M. Dangeard discute l'opinion générale des Zoologistes qui placent dans les Flagellées *Euglenœ*, *Cryptomonadineœ*, *Péridiniens*, *Chlamydomonadineœ*, *Volvocineœ*, *etc.*, lesquelles présentent des affinités végétales incontestables. Il s'appuie sur les résultats de ses travaux antérieurs pour expliquer ses vues à cet égard, en trouvant dans la présence de la chlorophylle un caractère de premier ordre pour la classification, et en se basant sur la digestion superficielle pour exclure des Protozoaires ces prétendus Flagellés.

Un autre fait sur lequel l'auteur croit devoir appeler l'attention c'est la présence, dans un certain nombre d'Infusoires, de certaines Algues constituées par de petites cellules à grains de chlorophylle qui colorent en vert le corps de ces animaux. Il cite à ce propos les constatations faites par divers observateurs qui en ont donné la

démonstration, et les fait suivre de détails assez circonstanciés qu'il a recueillis dans ses observations personnelles sur l'*Anisonema viridis* sp. nov. qu'il place à côté de l'*A. Acinus*. Il cherche ensuite à quel genre d'Algues doivent appartenir ces corpuscules verts qui habitent les Infusoires et en particulier l'*Anisonema viridis*. Après avoir rappelé que M. Brandt en a fait un genre de Palmellacées sous le nom de *Zoochlorella*, il ajoute que les petites cellules de ces Algues ayant la faculté de s'entourer d'une abondante secrétion de gélatine, cette gélatine est utilisée par l'animal ainsi que cela résulte clairement de l'étude des *Anisonema*. On peut croire, en effet, que cette utilisation par l'animal de la gélatine végétale a sa raison d'être ; on la comprend jusqu'à un certain point. Mais nous avouons ne pas saisir nettement la pensée de l'auteur, lorsqu'il dit ensuite : « Cette secrétion continue de gélatine explique d'ailleurs comment l'Algue peut vivre en parasite à l'intérieur du protoplasma pourvu de propriétés digestives. » L'Algue ne paraît-elle pas ici plutôt vivre de sa vie propre qu'en parasite ? Cela rappelle assez bien la symbiose algo-lichénique, dans laquelle le parasitisme du Lichen est beaucoup plus facile à établir que celui de l'Algue.

Dans la deuxième partie de son mémoire, M. Dangeard étudie successivement plusieurs familles d'Algues inférieures en commençant par celles qui ont avec les Flagellés les affinités les plus étroites. Ce qui caractérise les représentants de ces familles, c'est qu'ils possèdent de la chlorophylle et n'absorbent jamais d'aliments solides. Ils se rapprochent des Flagellés par leur mode de reproduction, c'est-à-dire par la formation de zoospores et la division longitudinale libre.

1° *Polyblepharideæ* (Dangeard). Cette famille comprend actuellement, d'après l'auteur, trois genres : *Polyblepharides, Paromimonas, Chloraster*, et occupe dans la classification une position parallèle aux *Chlamydomonadineæ* ; la différenciation végétale s'accuse par l'apparition de la chlorophylle, du corpuscule amylifère, de la membrane cellulosique.

2° *Chlamydomonadineæ*. M. Dangeard résume les observations dont il a déjà publié les résultats concernant cette famille, et les fait suivre de l'exposé d'observations nouvelles sur les *Phacotus angulosus* Stein, *P. lenticularis* Stein et *Corbieria vulgaris* sp. nov. relativement à leurs reproductions asexuelle et sexuelle, à la formation des zoospores et des gamètes, et à la fusion fécondatrice du plasma et des noyaux de ces derniers.

3° *Volvocineæ*. Cette famille paraît devoir continuer directement les *Chlamydomonadineæ*, dont elles se distinguent surtout par la propriété qu'ont leurs zoospores de former des colonies planes ou sphériques. M. Dangeard étudie successivement le *Pandorina Morum* et l' *Eudorina elegans*. Il détaille toutes les phases bio-

logiques de cette dernière espèce, la formation des colonies mâles et des colonies femelles, le développement des anthérozoïdes et des oosphères, la germination des œufs et la naissance des oospores.

4° *Tetrasporeæ*. L'auteur fait connaître un genre nouveau de cette famille, le genre *Schrammia*, dont il a étudié le *S. barbata* sp. nov. Il en donne la diagnose qui doit se compléter ultérieurement à la suite d'une étude nouvelle de la reproduction par zoospores. Il signale, à propos de l'histoire de cette Algue, qu'elle permet de supposer qu'il existe des relations assez étroites entre les Cyanophycées et les Chlorophycées.

5° *Pleurococcaceæ*. M. Dangeard décrit dans cette famille deux genres nouveaux et publie d'intéressants détails sur les *Hariotina reticulata* sp. nov., *Gomphosphæria aurantiaca* Bleisch, *Palmella hyalina* Bréb. et *Placosphæra opaca* sp. nov. : il en analyse les caractères distinctifs, et traite de la formation de leurs cellules avant et après l'enkystement.

6° *Hydrodictyeæ*. M. Dangeard relate ici les observations qu'il a faites sur les phénomènes de la reproduction et de l'enkystement du *Polyedrum trigonum*. Il conclut en émettant l'opinion que le genre *Polyedrum* doit être conservé dans les *Hydrodictyeæ*, en raison de ses affinités avec les *Pediastrum* et les *Sorastrum*.

Ce très intéressant mémoire est accompagné de deux planches, dont les figures coloriées facilitent singulièrement l'étude de ces Algues microscopiques si minutieusement décrites par l'auteur.

E. R.

Ed. Prillieux. — **Les Tumeurs à bacilles des branches de l'Olivier et du Pin d'Alep** (*Revue générale de Botanique*, t. I, p. 93).

Après avoir rappelé que c'est en Amérique que l'on signala pour la première fois, en 1845, la gangrène du Poirier causée par une Bactérie, le *Micrococcus amylovorus* Burill, et que depuis en Europe il avait lui-même attribué l'altération du blé coloré en rouge pourpre à des colonies de Micrococcus, tandis que M. Wakker décrivait l'action nocive du *Bacterium Hyacinthi* et M. Comes celle du *Bacterium gummis*, M. Prillieux appelle l'attention sur le rôle que jouent certaines Bactéries dans la formation de tumeurs ligneuses qui se développent dans l'écorce de l'Olivier et du Pin d'Alep.

Cette maladie de l'Olivier est depuis longtemps connue, soit en Italie, soit en France. Bernard, en 1787, en parle comme de galles produites par des blessures d'insectes. Depuis on a attribué cette maladie à d'autres causes. Mais, en 1886, M. Arcangeli remarqua dans ces loupes la présence de Bactéries, et M. Savastano confirma

le fait dans sa Note sur la Tuberculose de l'Olivier. D'un autre côté, M. Vuillemin annonçait, en 1888, que deux colonies de Bacilles remplissaient les tumeurs developpées sur les branches du Pin d'Alep. M. Prillieux, ayant eu à sa disposition des échantillons de tumeurs de ces deux arbres, les a étudiés comparativement. Il fait connaître ainsi le résultat de ses observations.

Les Bacilles de l'Olivier et ceux du Pin d'Alep, sans être identiques, ont sensiblement la même taille et la même forme. Sur l'Olivier, l'action des Bacilles produit d'abord un petit tubercule qui se mortifie ; puis ces Bacilles, se multipliant, pénètrent dans les cellules sous-jacentes, et y forment de nouvelles colonies qui détruisent peu à peu le tissu en y creusant des lacunes de plus en plus profondes. Pendant ce temps, le tissu externe du rameau s'hypertrophie et se développe en un bourrelet qui constitue la tumeur proprement dite. Celle-ci enfin se lignifie et bientôt se dessèche, entraînant la mort de la branche qui la supporte. On comprend tout le tort que ces Bacilles peuvent faire aux Oliviers, lorsque le nombre de ces tumeurs s'accroît progressivement sur leurs rameaux.

Quant aux loupes du Pin d'Alep, leur extension n'a pas la même importance, car on ne les a observées que dans un petit nombre de localités. Elles sont toutefois plus grosses que les tumeurs de l'Olivier, et les Bacilles qui les produisent y forment de petites boules zoogléiques, ce qui les distingue des Bacilles précédents. M. Prillieux n'est pas d'accord avec M. Vuillemin, qui pense que les Bacilles pénètrent dans les branches du Pin par des piqûres d'insectes jusqu'au cambium. Il croit que ces piqûres ne sont pas nécessaires et que la pénétration peut s'effectuer par une fissure quelconque. La formation des tumeurs du Pin d'Alep est en somme à peu de chose près semblable à celle des tumeurs de l'Olivier et produit les mêmes résultats destructeurs.

E. R.

G. Gastine. — **Sur la fermentation alcoolique des miels et la préparation de l'hydromel** (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CIX, page 479).

M. Gastine a pensé que si les dissolutions de miel subissent difficilement la fermentation alcoolique, même quand on les place dans les conditions les plus convenables, cela tient à l'absence des matériaux nécessaires à la nutrition des ferments alcooliques. D'après les essais de cet auteur, le mélange suivant permettrait facilement d'obtenir un but trop souvent abandonné aux hasards d'une pratique aveugle, conduisant à des échecs presque constants.

Phosphate bibasique d'ammoniaque. . .	100 gr.
Tartrate neutre d'ammoniaque	350
Bitartrate de potasse	600
Magnésie	20
Sulfate de chaux.	50
Sel marin	3
Soufre	1
Acide tartrique	250
Total.	1.374

Une dissolution de 230 grammes de miel dans un litre d'eau additionnée de 5 à 7 grammes du mélange qui vient d'être indiqué, placée à 22-25° centigrades fermente rapidement et complètement au bout d'une douzaine de jours en donnant 9 p. 100 d'alcool.

C'est là une recette précieuse dont la découverte présente un grand intérêt agricole et industriel.

Dr M.

S. Arloing. — **Sur l'étude bactériologique des lésions de la péripneumonie contagieuse du bœuf** (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CIX, pages 428 et 459).

Après avoir rappelé l'incertitude qui règne encore sur l'étiologie de la péripneumonie contagieuse, M. Arloing résume les expériences auxquelles il s'est livré pour déterminer le microbe de cette affection. Tout d'abord, il a isolé de la sérosité qui s'écoule des parois d'une coupe faite à travers un poumon malade, 4 microorganismes distincts : 1° Un bacille qui fluidifie promptement la gélatine, et qu'il appelle *Pneumobacillus liquefaciens bovis ;* 2° Un microcoque non fluidifiant dont les colonies ressemblent à des gouttes de bougie, le *Pneumococcus gutta cerei ;* 3° Un second microcoque, le *Pneumococcus lichnoïdes* qui s'étale sur la gélatine en couches minces et ridées : 4° Enfin un dernier microcoque jaune-orange le *Pneumococcus flavescens*. Les deux premiers microbes sont aérobies et anaérobies, les deux derniers exclusivement aérobies ; le *Pneumococcus liquefaciens bovis* peut seul végéter à la température remarquablement basse de + 3° 5. Le *Pneumococcus lichnoïdes* ne végète pas sur la pomme de terre, tandis que le bacille liquéfiant et les deux autres microcoques s'y développent facilement.

Restait à savoir laquelle était de ces quatre espèces, celle qui déterminait la péripneumonie contagieuse. La question était délicate et difficile, car les essais faits pour provoquer cette affection par les inoculations intra-pulmonaires du virus naturel restent

sans résultat, ou du moins, ne reproduisent pas une maladie identique à la péripneumonie contagieuse.

Pour M. Arloing, le microbe spécifique est le *Pneumobacillus liquefaciens bovis*, d'abord parce que les lésions qu'il produit se rapprochent le plus de celles que détermine le virus naturel fraîchement recueilli, puis parce que la virulence de ce bacille renforcé par sa culture dans les lésions sous-cutanées qu'il détermine chez le bœuf, le rend capable de reproduire la péripneumonie elle-même. Ces résultats remarquables ont été obtenus en inoculant 20 centimètres cubes de culture du bacille dans les veines jugulaires de bovidés pesant de 200 à 250 kilogrammes. Après la mort survenue en 18 heures, on retrouve à l'autopsie toutes les lésions de la péripneumonie aiguë; en inoculant 8 centimètres cubes de la même culture, les accidents mortels sont conjurés, mais en sacrifiant les animaux au bout d'un mois, on retrouve dans leurs poumons les lésions des formes chroniques de la péripneumonie épizotique.

Dr M.

Dr L. Laruelle. — Étude bactériologique sur les péritonites par perforation (*La Cellule*, t. V, 1er fascicule, page 61).

Le Dr Laruelle établit par une série d'expériences préliminaires effectuées sur les organismes observés dans l'exsudat des péritonites par perforation, chez l'homme et les animaux qu'un bacille semble l'auteur exclusif de l'invasion microbienne qui s'observe en pareil cas; que ce bacille se montre presque à l'état de pureté dans l'intestin de l'homme, du chien, où il constitue environ les 95 p. 100 de tous les microorganismes qu'on y rencontre. Les propriétés de ce bacille, correspondent exactement au *Bacterium coli commune* étudié et décrit par M. Th. Escherich.

Le Dr Laruelle étudie ensuite le rôle de ce bacille de l'intestin dans les péritonites par perforation, et il démontre par de nombreuses séries d'expériences effectuées sur les animaux que le *Bacterium coli commune* est l'agent des péritonites par ulcération ou traumatisme, quoique ce rôle ne doive lui être attribué que dans certaines conditions déterminées; ces conditions sont réalisées, quand on injecte dans le péritoine avec des cultures pures du bacille de l'intestin, de la bile stérilisée, liquide qui se trouve normalement dans le tube digestif des animaux.

Injecté dans le tissu cellulaire sous-cutané, le bacille d'Escherich détermine la formation d'abcès, souvent des intoxications généralement graves et même la mort. L'auteur met ensuite en parallèle ses expériences et celles de MM. Grawitz et Pawlowsky sur le même sujet qui confirment, sauf sur de légers points de détails, les résultats de ses propres travaux.

Abordant la morphologie du *Bacterium coli commune*, M. Laruelle signale le polymorphisme très net des cultures de ce microbe sur la gélatine, son aspect variable dans les divers milieux nutritifs où on l'ensemence, et enfin sa faculté négative de donner des spores déjà signalée par M. S. Escherich. Le travail du Dr Laruelle est une contribution très importante à l'étude d'une bactérie très répandue, qui héberge sans cesse dans notre tube digestif, et qui peut à la suite de lésions importantes de l'intestin se répandre dans la séreuse péritonéale accompagnée de substances qui en favorisent le développement et en exaltent la virulence.

Dr M.

E. Klein. — **Sur une maladie infectieuse aiguë de la grouse** (Lagopus scotius) (*Centralbl. für Bacteriologie u. Parasitenkunde*, VI, p. 36).

Les grouses, cet oiseau si recherché des chasseurs et des gourmets de la Grande-Bretagne, sont fréquemment victimes d'une maladie épidémique, qui les fait périr par milliers et cause aux districts dans lesquels on s'occupe de l'élevage de ce volatile, un préjudice qui se chiffre par des centaines de mille livres sterling. Quelquefois l'épidémie n'atteint que quelques districts, cette année-ci, par contre, il n'y a guère de districts des provinces d'Écosse ou de l'Angleterre septentrionale qui n'ait pas été atteint du fléau.

Les premiers symptômes de la maladie se traduisent par un affaiblissement du vol ; au lieu de voler droit, les oiseaux volent en zig zag et ne font bientôt plus que de courts trajets. La voix devient enrouée, surtout chez les mâles, les plumes des jambes tombent, et les paupières écarlates chez l'oiseau sain prennent une teinte rose-pâle. Les oiseaux malades recherchent les cours d'eau et s'y tiennent jusqu'à leur mort qui survient au bout de quelques jours. A l'autopsie on trouve les animaux considérablement amaigris, les séreuses de l'intestin sont rouges, la rate petite et foncée, les reins et le foie très hyperémiés. A la surface de ce dernier, on constate quelquefois un fin réseau grisâtre de tissu nécrosé. Les deux poumons sont le siège d'une forte inflammation. Dans les poumons et dans le foie on trouve presque toujours à l'état de pureté une bactérie particulière, qui se cultive facilement, et qui est surtout nombreuse dans le poumon. Elle est absente du sang du cœur.

Examinées au microscope ces bactéries se présentent sous la forme de micrococcus ronds ou ovales et immobiles.

Dans les cultures artificielles, surtout dans le bouillon, on les voit quelquefois, mais rarement, prendre la forme de bâtonnets, à bouts arrondis, isolés ou en chaînettes de 2 à 4 individus. Le diamètre

des micrococcus est de 0,4 μ et la longueur des micrococcus ovales de 0,6 μ. La longueur des bâtonnets varie entre 0,8 et 1,6 μ.

Dans les cultures sur plaques les colonies se montrent à la loupe après 24 heures (à l'œil nu après 36 heures) sous forme de petites écailles anguleuses et transparentes. Trois ou quatre jours plus tard, elles forment de petites plaques de 3 à 5 millimètres à bords irréguliers. Éclairées d'en haut elles paraissent grises et brillantes. Avec le miroir réflecteur elles sont transparentes. Le maximum de la croissance est atteint en une semaine.

Inoculé par stries sur gélatine, ce microorganisme forme une bande étroite à bords dentelés. Avec le temps les bords se plissent et deviennent opaques, tandis que le reste est transparent. Sur gélose, il forme un mince gazon grisâtre et sec. Le bouillon est troublé uniformément sans formation de pellicule. Ensemencé par piqûre, il se propage le long de celle-ci sous forme de petites gouttelettes. Au sommet il se forme, comme à la surface des plaques, une écaille grise, sèche, à bords dentelés. Ce microbe paraît avide d'oxygène, car il croît beaucoup plus vite à la surface qu'à l'intérieur.

Il est pathogène pour les souris et les cobayes. Inoculés sous la peau du dos avec des cultures (une à deux gouttes de bouillon) ces animaux meurent en 30 où 48 heures. Sur 8 souris 2 restèrent toutefois en vie, et des 8 cobayes inoculés 4 seulement moururent. Comme chez les grouses mortes de la maladie, le foie et les poumons sont fortement hyperémiés; on retrouve aussi les bactéries dans le sang. Les cultures que l'on fait avecces organes des souris et des cobayes inoculés donnent des cultures pures du microbe ; celles-ci, toutefois, contiennent plus de formes en bâtonnets que les cultures faites avec le suc pulmonaire des grouses malades.

Il eût été intéressant surtout de reproduire avec ces cultures la maladie chez la grouse même. Malheureusement, la difficulté qu'il y a de se procurer un de ces oiseaux vivants a empêché l'auteur de le faire. Il espère, cependant, pouvoir le printemps prochain, faire couver des œufs de grouse à des poules et combler alors cette lacune.

Les poules domestiques, les pigeons et les lapins se montrèrent réfractaires à l'action du virus.

E. F.

M. Lucet. — **Sur la nature infectieuse des mammites chez la vache** (*Recueil de médecine vétérinaire*, VI, 13, p. 123).

L'auteur a réuni un certain nombre d'observations cliniques et bactériologiques sur des cas de mammites qui l'amènent à conclure que, en dehors de la congestion des mamelles, envahissant tou-

jours la totalité de l'organe, ayant lieu quelques jours avant ou après l'accouchement, se produisant seulement chez les primipares ou chez les très bonnes laitières, dans la majorité des cas sans gravité, et cédant facilement à un traitement antiphlogistique, il n'y a, au moins chez les vaches, que des mammites infectieuses, différentes dans leurs formes et leur gravité, suivant la nature de l'agent infectieux (dont M. Lucet décrit un certain nombre). Le traitement doit consister principalement en injections de liquides désinfectants, soit dans le trayon, soit dans les tissus même de la partie malade.

E. F.

Dr Ch. H. Ali-Cohen. — **Du mouvement chez les micrococcus** (*Centralbl. für Bacteriol. u. Parasitenk.*, VI, p. 33).

On a constamment admis jusqu'ici que les micrococcus étaient dépourvus de tout mouvement propre. M. Ali-Cohen démontre que cette supposition est erronée. Il a, en effet, isolé de l'eau un micrococcus doué de mouvements natatoires parfaitement caractérisés et absolument distincts du mouvement brownien. En une seconde ce microorganisme franchit une distance d'environ 10 μ. Il s'agit d'un véritable micrococcus et non pas d'un micrococcus ovale ou bacille court ainsi que le prouvent les grossissements les plus forts (Apochromate de Zeiss et oculaire n° 18, soit un grossissement de 2,250 diamètres.) Ce micrococcus se cultive facilement sur gélatine, gélose, pomme de terre, etc., sur lesquelles il produit un pigment rose. Il ne croît toutefois pas à la température du corps. Il liquéfie lentement la gélatine. Les mouvements natatoires s'observent le mieux dans de la gélose additionnée de 5 p. 100 de sucre de lait. Cette découverte est certainement importante car elle ne laisse plus subsister entre bacilles et micrococcus la différence biologique fondamentale qu'on avait établie en admettant la mobilité des uns, tandis qu'on la refusait à ces derniers.

Dr Iustyn Karlinski. — **Recherches sur la manière dont se comporte le bacille du typhus dans les déjections typhiques** (*Centralblatt für Bacteriol. u. Parasitenkunde*, XI, p. 65).

Sous ce titre l'auteur a cherché à répondre aux questions suivantes :

1° A quel moment retrouve-t-on les bacilles typhiques dans les déjections des malades?

2° La présence des bacilles typhiques dans les selles peut-elle être considérée comme un signe diagnostique?

3° Combien de temps les bacilles restent-ils vivants dans les déjections typhiques?

4° Combien de temps les bacilles contenus dans les déjections typhiques restent-ils vivants une fois que celles-ci ont été mêlées au contenu des fosses d'aisance ?

D'après les expériences de M. Karlinski on ne retrouverait les bacilles d'Eberth dans les déjections jamais avant le commencement de la seconde semaine de la maladie; en général leur présence coïnciderait plus ou moins avec le moment où l'infiltration des glandes de Peyer se change en nécrose. Leur nombre va alors en augmentant jusqu'au moment où la température commence à baisser et les selles à redevenir solides. A partir du vingt-quatrième jour de la maladie, il est impossible de les retrouver par la méthode des cultures sur plaques. Dans un seul cas, accompagné d'une récidive le trente-sixième jour, on put encore en trouver le cinquantième jour.

La seconde question est résolue affirmativement par M. Karlinski. L'examen bactériologique des selles lui a rendu de grands services dans les cas de typhus infantile et dans des cas atypiques surtout de cette maladie fréquente au printemps en Bosnie et Herzégovine. L'auteur donne d'intéressants détails cliniques sur ce genre de typhus spécial à ces contrées,et est disposé à admettre que la marche irrégulière du typhus est, dans ces cas, due à une atteinte antérieure de malaria.

Relativement à la troisième question l'auteur est amené à conclure:

1° Que les bacilles ne restent pas vivants plus de 3 mois dans les déjections typhiques;

2° Que la conservation des selles, à des températures différentes n'exerce pas d'influence appréciable sur la durée de leur vie;

3° Que la présence, dans les selles, des variétés de *proteus* liquéfiant le gélatine, diminue beaucoup leur résistance, attendu qu'en concurrence avec ceux-ci, les bacilles typhiques périssent tous au bout de 10 à 16 jours.

La réaction des selles était constamment restée alcaline. On se rappelle peut-être que M. Uffelmann avait assigné aux bacilles typhiques une vie plus longue dans ces conditions (5 mois et demi). M. Karlinski attribue cette divergence à la différence de leurs procédés. Ce dernier laissait, en effet, les bacilles typhiques dans les selles qui les contenaient tandis que M. Uffelmann ajoutait des cultures liquides à des selles normales; or avec ce dernier procédé la quantité des bacilles mis en expérience est bien plus forte, ce qui explique leur plus longue durée.

En ce qui concerne la quatrième question, M. Karlinski arrive au résultat que les bacilles typhiques meurent très rapidement (48 heures), quand ils se trouvent en contact avec le contenu des fosses

d'aisances. L'auteur l'attribue à la concurrence vitale des autres bactéries et à la réaction un peu acide du purin. Les ptomaïnes secrétées par d'autres microbes ne seraient pas non plus sans influence, car dans le purin stérilisé auquel on ajoute des selles typhiques on peut retrouver, il est vrai, des bacilles typhiques encore au bout d'un mois, mais en nombre bien moins considérable que dans les selles non additionnées de purin.

E. F.

Dr A. D. Pawlowky. — Contribution à l'étude de l'étiologie et des formes de la péritonite aigue (*Virchow. Archiv. für pathol. Anatomie u. Physiologie*, 117, 3, p. 469).

Peu de questions ont donné lieu à des conclusions aussi diamétralement opposées que celle des causes et de l'origine de la suppuration. Les uns y voient l'action de microbes spécifiques ou de leurs produits et aboutissent à la formule : « sans microbes point de suppuration », et ils appuient leur dire d'expériences nombreuses ; d'autres, au contraire, se fondant également sur les résultats de leurs expériences, affirment que des agents chimiques produisent parfois une vraie suppuration en dehors de toute intervention microbienne. En présence de ces résultats contradictoires, le lecteur reste perplexe et attend qu'un travail d'ensemble vienne nous fournir l'explication de ces contradictions et nous donner la clef du mystère.

Le mémoire très étendu et très consciencieux du Dr Pawlowsky, traitant spécialement de l'étiologie des péritonites aiguës sera lu avec plaisir par les défenseurs de l'origine microbienne de la suppuration, qui y trouveront d'importants arguments en faveur de leurs théories.

L'auteur débute par un soigneux exposé historique des recherches publiées sur ce sujet et des résultats obtenus par différents expérimentateurs (Wegner, Grawitz et Mikulicz), et passe ensuite à ses propres expériences. Celles-ci se divisent en quatre groupes principaux :

1° Action des substances chimiques sur le péritoine ;

2° Action des microbes ;

3° Action du suc intestinal ;

4° Action combinée des substances chimiques et des microbes.

Les substances chimiques employées par l'auteur (injections intrapéritonéales chez des lapins et des chiens) étaient l'huile de croton, la trypsine (ferment digestif) et les produits de cultures (cultures filtrées) du *Staph. aureus* et du streptococcus de l'érysipèle. Dans aucun cas il ne se produisit de péritonite purulente, mais seulement des péritonites hémorrhagiques quand les doses injectées étaient trop fortes.

Lorsqu'on injecte des microbes non pathogènes, soit seuls, soit que l'on y ajoute des substances chimiques irritantes à des doses supportées par les animaux d'expérience (par exemple 1/10 de goutte d'huile de croton), ces derniers continuent à se bien porter et ne contractent pas de péritonite. Les résultats sont, au contraire, tout autres, dès que l'on emploie les microbes spécifiques (*Staph. aureus*). Soit seuls, soit mélangés avec des substances chimiques irritantes, ces agents pathogènes provoquent une péritonite aiguë purulente se terminant fatalement, à moins que les doses injectées ne soient trop faibles. Le minimum supporté par les animaux s'obtient en ajoutant une anse de platine d'une culture sur gélose de *Staph. aureus*, à 5 centimètres d'eau que l'on filtre sur papier et dont on met deux anses de platine dans le contenu d'une seringue. Au-dessus de cette dose, les injections se montrèrent toujours mortelles. Plus la péritonite dure, plus son caractère purulent s'accuse. Lorsqu'on substitue au *Staph. aureus* le *Bac. pyocyaneus*, on provoque également une péritonite purulente quand la dose est assez faible pour que la maladie dure un certain temps. Des doses trop massives produisent une péritonite fibrineuse-hémorrhagique à laquelle les animaux succombent en 24 à 48 heures. M. Pawlowsky résume en conséquence ces résultats en disant: les microbes pyogènes, et, parmi ceux-ci, principalement le *Staph. aureus*, sont la cause de la péritonite aiguë purulente.

Les expériences avec des sucs intestinaux sont particulièrement intéressantes au point de vue clinique. En effet, les perforations de l'intestin sont généralement suivies de péritonites aiguës et il est important de savoir si celles-ci sont occasionnées par les substances chimiques contenues dans l'intestin ou par les microbes qui habitent ce dernier. M. Pawlowsky injecta donc du suc intestinal recueilli dans l'intestin grêle d'un lapin, non filtré, du suc filtré sur papier et du suc stérilisé. Ce dernier se montra inoffensif; les substances chimiques seraient donc hors de cause. Le suc non filtré, au contraire, provoqua constamment une péritonite purulente, ce qui parlerait en faveur de l'action des microbes. Le suc filtré sur papier semblerait devoir provoquer les mêmes effets, mais chose curieuse, son injection laissa les animaux en parfaite santé. Ce fait, anormal au premier abord, s'expliquerait cependant, d'après l'auteur, par les deux raisons suivantes. D'abord, le suc filtré sur papier contient un nombre beaucoup moins considérable de bactéries que celui qui n'a pas été filtré; les doses injectées peuvent, par conséquent dans ces conditions, ne pas dépasser les doses minima tolérées par l'organisme animal. Ensuite le suc non filtré contient de nombreuses parcelles de matières nutritives qui permettent aux microbes de proliférer et de prendre pied dans la cavité péritonéale tandis que ceux contenus dans le suc non filtré sont rapidement absorbées par les stomates du péritoine et amenés dans la circulation générale et les

organes de sécrétion ou détruits par les phagocytes. Cette hypothèse est rendue plausible par une série d'expériences dans lesquelles des doses minima de *Staph. aureus*, sans cela tolérées par les animaux, provoquèrent des péritonites purulentes mortelles du moment où l'on injectait en même temps quelques centimètres cubes de gélose nutritive. De même, les doses minima de *Staph. aureus* deviennent rapidement mortelles quand on injecte simultanément des irritants chimiques à des doses tolérées par l'organisme (1/10 de goutte d'huile de croton ou 1/20 de gramme de trypsine).

Dans les cas de péritonite purulente provoquée par l'injection du suc intestinal, M. Pawlowsky trouva dans l'exsudat un bacille particulier, qu'il put cultiver et qui, injecté à l'état de cultures de pure, provoqua également une péritonite purulente. Quand la dose est trop massive, l'animal succombe en 20 à 24 heures à une péritonite généralisée hémorrhagique. Ce « *Bacillus peritonitidis ex intestinis cuniculi* » comme l'appelle M. Pawlowsky, est un bâtonnet court, immobile, à bouts arrondis et ovales quand il est jeune. Lorsqu'on les colore en bleu de méthylène pendant 24 heures, leurs bouts prennent la couleur avec plus d'intensité que le centre. A 35 degrés, ils croissent rapidement (en 24 heures) sur la gélose sous forme de strie blanchâtre, épaisse, huileuse et brillante. Ils croissent aussi à la température ordinaire sur la gélatine, mais un peu plus lentement et ne la liquéfient pas. Au bout de deux jours déjà il se forme une culture en tête de clou, qui s'étend en forme de rayons autour de la périphérie. Dans la piqûre on remarque souvent des bulles de gaz. Ce microorganisme forme des spores.

E. F.

Dr C. Gessner. — **Sur les bactéries dans le duodénum de l'homme** (*Archiv. für Hygiene*, IX, 2, p. 128).

Dans 18 cas d'autopsies faites de suite après la mort — les cas d'affections de l'estomac et de l'instestin avaient été exclus — M. Gessner a examiné le contenu duodénal au point de vue bactériologique. Les bactéries qu'il y a trouvées constamment, ou du moins fréquemment en grand nombre, sont les suivantes :

1° *Bacterium tholoeidum;* forme sur les plaques de gélatine de petites coupoles d'un blanc sale, qui atteignent la grandeur d'une pièce de 5 pfennigs (à peu près la grosseur de la pièce de 50 centimes française). Après 4 jours, le centre devient gris-brun. Les colonies situées dans la profondeur de la gélatine sont vert olive et ont la forme d'un noyau de datte. Sur gélose, il forme un gazon jaunâtre. Il tue les lapins et les souris, et on le retrouve dans le sang et les organes entouré d'une auréole claire ;

2° *Streptococcus pyogenes duodenalis ;* est pathogène pour les

souris, chez lesquelles il provoque la formation d'un abcès ou qu'il tue avec symptômes d'inflammation érysipélateuse, probablement identique avec le *Streptococcus erysipelatis* ou le *Str. pyogenes;*

3° *Bacterium coli commune;*

4° *Bacillus Utpadei* (déjà décrit par M. Utpadel, *Archiv. für Hygiene*, VI, p. 359);

5° *Staphylococcus citreus duodenalis;*

6° Un staphylococcus orange, liquéfiant la gélatine;

7° Un bacille blanc, liquéfiant aussi la gélatine; semblable au *Bacillus subtilis.*

Il résulterait des intéressantes expériences de M. Gessner que l'on retrouve dans le canal intestinal de l'homme sain (5 cas concernaient des morts par accidents) des bactéries pathogènes, le *Streptococcus pyogenes* ou de l'érysipèle. Peut-être est-ce là aussi l'origine des streptococcus pathogènes que l'on retrouve dans le sang et dans les organes dans des cas de rougeole, de scarlatine, de typhus, etc.

E. F.

Prof. de Giaxa. — **De la manière dont quelques microorganismes pathogènes se comportent dans l'eau de mer** (*Zeitschrift für Hygiene*, VI, 2, p. 162).

L'action de l'eau de mer sur les microorganismes n'a, pour ainsi dire, pas encore été étudié jusqu'ici ; car, à part les expériences que MM. Nicati et Rietsch ont faites à cet égard sur le bacille du choléra, nous ne connaissons pas de mémoire traitant de cette question. Le travail de M. de Giaxa vient donc utilement combler cette lacune, et il est incontestable que ce point spécial présente un intérêt pratique considérable. En effet, si les microorganismes pathogènes ne peuvent pas vivre dans l'eau de mer, la contamination de celle-ci, par des déjections ou autres impuretés, ne saurait présenter un bien grand danger; si, au contraire, ils parviennent à y prospérer, les chances d'infection ne sont pas à dédaigner. M. de Gaxia cite ici comme causes directes d'infection : 1° L'emploi de l'eau de mer comme boisson ; les populations des pays maritimes la boivent quelquefois à titre de dépuratif ; en outre, on y est exposé en se baignant ; 2° Contamination par les bains, en cas de blessures ou d'érosions de la peau; 3° Dispersion de particules d'eau salée dans l'air par des vents violents.

Parmi les causes indirectes d'infection, l'auteur range : 1° Pénétration de l'eau de mer dans les terrains situés près de la mer et contamination des sources ; 2° Emploi de l'eau de mer pour le lavage des tonneaux et autres ustensiles ; 3° Emploi de cette eau pour le blanchissage, etc.

M. de Giaxa a étendu ses recherches aux bactéries du choléra, du charbon, du typhus et au *Staphylococcus pyogenes aureus*. Les prises d'eau de mer se faisaient à différents endroits : à 50 mètres de l'embouchure d'un des canaux du port de Naples, à 350 mètres et à 3 kilomètres de la rive. Une partie de cette eau était stérilisée, répartie dans les ballons et infestée avec les bactéries en question; l'autre partie était infestée sans être préalablement stérilisée. De suite après l'inoculation, on faisait des plaques pour déterminer le nombre des germes inoculés et des germes vulgaires contenus dans l'eau non stérilisée. Les plaques faites les jours suivants (l'auteur a étendu les expériences jusqu'au 40e jour) montraient alors s'il y avait augmentation ou diminution des germes semés. Ces très nombreuses expériences remplissent un grand nombre de tableaux auxquels nous devons renvoyer le lecteur, nous bornant ici à en donner un résumé succinct.

Bacille du choléra. — L'existence et la reproduction de celui-ci dans l'eau de mer non stérilisée dépendent beaucoup de la richesse de cette dernière en germes vulgaires, dans une eau impure, comme celle puisée dans le port, à 50 ou 350 mètres du bord, le bacille cholérique disparaît rapidement, quelquefois même avant que 24 heures se soient écoulées. Dans l'eau puisée à 3 kilomètres, et beaucoup moins riche en germes, il augmente pendant les premières 24 heures; mais à partir du 3e jour, les autres bactéries lui ayant fait concurrence, il disparaît également. L'eau stérilisée, paraît être un milieu nutritif favorable, car il s'y reproduit avec abondance. Au bout d'un certain temps, cependant (20 à 30 jours), il continue à diminuer et finit aussi par disparaître.

Bacille du charbon. — Dans l'eau de mer non stérilisée, le bacille du charbon se comporte comme celui du choléra, c'est-à-dire il disparaît rapidement par suite de la concurrence que lui font les microbes de l'eau. Passées 48 heures, l'auteur ne l'a plus retrouvé. Même les spores ne font pas exception, car, ainsi que M. de Giaxa s'en est assuré, l'eau de mer, inoculée à des cobayes 10 jours après avoir été infectée avec des cultures charbonneuses — les plaques ne décelaient, à ce moment, plus de colonies charbonneuses — se montra absolument inoffensive, et cependant les cultures employées pour infecter l'eau étaient bien virulentes, comme le prouvèrent les expériences de contrôle. Ce phénomène semble assez difficile à expliquer, étant donnée la résistance bien connue des spores charbonneuses; aussi l'auteur a-t-il recours à l'hypothèse que les spores germent dans l'eau et sont tuées à l'état végétatif, alors qu'elles sont moins résistantes. L'eau de mer stérilisée, par contre, lui fournit, comme au bacille cholérique, un très bon terrain nutritif.

Bacille du typhus. — Ces microorganismes n'étant pas toujours faciles à différencier des colonies des bacilles vulgaires de l'eau de

mer, M. de Giaxa n'a fait des expériences qu'avec de l'eau de mer puisée à 3 kilomètres de la côte et, par conséquent, pauvre en germes. Le résultat fut que le bacille typhique diminua à mesure que les microbes augmentèrent de nombre. Il se maintient cependant vivant pendant plusieurs jours. Dans l'eau stérilisée, il commence généralement par diminuer, puis il y a une recrudescence qui ne dépasse pas toutefois une dizaine de jours, et qui est suivie d'une nouvelle diminution. Le *Staphylococcus pyogenes aureus* se maintient beaucoup plus longtemps vivant; dans une expérience, l'auteur le trouva encore le 40e jour; pour 1,500 colonies de microbes vulgaires, il y avait 860 colonies de staphylococcus ; dans quelques expériences, il a même semblé prospérer, malgré la concurrence des autres bactéries; il semblerait donc avoir moins à craindre de cette concurrence que les bactéries pathogènes précédentes. Dans l'eau stérilisée, il s'est bien développé, mais au bout d'un certain temps (dans 2 expériences au bout de 16 jours) il commence aussi à diminuer.

Pour mieux étudier l'action de la concurrence des microbes de l'eau, M. de Giaxa isola, parmi les 22 espèces différentes qu'il y trouvées, 6 microorganismes qu'il y rencontrait constamment et les inocula dans du bouillon simultanément avec des bacilles charbonneux ou des bacilles cholériques. Le résultat fut que 4 de ces microorganismes s'opposent, dans ces cultures mélangées, au développement de la bactéridie charbonneuse, et la détruisent même rapidement, tandis que 2 autres permettent sa prolifération. Pour plus de sûreté, l'auteur inocula ces 6 cultures mélangées à des souris. Les 4 dans lesquelles le microscope ne décelait plus aucune bactéridie charbonneuse, ne donnèrent pas de charbon aux souris; les 2 autres, dans lesquelles la bactéridie avait cru, leur conférèrent un charbon mortel. Quand on stérilise les cultures pures des 6 organismes étudiées par M. de Giaxa, la bactéridie charbonneuse y croît ; d'après M. de Giaxa, la destruction de la bactéridie serait donc due, non pas à l'action des produits de culture de ces microorganismes, mais bien à un effet de concurrence vitale. Cette action se fait également sentir à l'égard du bacille du choléra qui, au bout de 48 heures, avait déjà disparu des cultures où se trouvaient les microorganismes 1, 2, 3 et 5. Il avait, en revanche, crû abondamment en concurrence avec les microorganismes 4 et 6. Au bout de 6 jours, toutefois, on ne le retrouvait que dans la culture mélangée avec la bactérie n° 6. Dans les cultures stérilisées de ces microorganismes, il se reproduit aussi facilement que la bactéridie charbonneuse.

Il n'y aurait donc, en somme, nous dit M. de Giaxa, pas grande différence, pour les microorganismes pathogènes qu'il a étudiés, entre l'eau de mer et l'eau douce. Dans cette dernière, en effet, ainsi que l'ont prouvé MM. Wolhügel et Riedel et M. Kraus, les bac-

téries du typhus, du choléra et du charbon peuvent vivre longtemps, quand elle a été stérilisée, tandis que, quand elle n'a pas été stérilisée, la concurrence des microbes vulgaires qu'elle contient les fait disparaître plus ou moins rapidement. Comme résultat pratique des expériences de M. de Giaxa, il y aurait donc à déduire que si, d'une part, la concurrence des microbes vulgaires empêche, dans la plupart des cas, la prolifération des microbes pathogènes, ceux-ci peuvent, néanmoins, se maintenir vivants pendant quelque temps dans l'eau de mer. Ils pourraient ainsi, s'ils venaient à être placés dans des conditions plus favorables, devenir une source d'infection ; aussi, l'auteur exprime-t-il l'espoir que l'hygiène publique attachera plus d'importance qu'elle ne l'a fait jusqu'ici à la contamination de l'eau de mer, surtout dans les ports. E. F.

BIBLIOGRAPHIE

Buetschli. O. — **Protozoa.** Lief. 62-64, p. 1821-2035. Bronn's Classen und Ordnungen des Thier — Reichs. Erster. Band.

Les trois dernières livraisons de l'important ouvrage du professeur Bütschli contiennent la fin des Tentaculifères, un appendice résumant la classification des Radiolaires de Hœckel parue après la publication du tome I des Protozoa et dont l'importance justifie la création de l'appendice dont elle est l'objet.

L'ouvrage du savant professeur d'Heidelberg commencé en 1880 et terminé à la fin de 1889, comprend 3 volumes. Le premier paru de 1880 à 1882 contient les Sarkodina et les Sporozoa. Le second paru de 1883 à 1887 comprend les Mastigophora titre sous lequel le professeur Bütschli a réuni les flagellés et les Cilio-flagellés. Enfin le troisième est consacré aux Infusoires Ciliés et tentaculifères.

Une œuvre de cette taille ne peut manquer de constituer le guide le plus sûr pour celui qui s'occupe des Protozoaires ; elle est la seule qui embrasse d'une façon complète et méthodique cette classe si négligée jusqu'ici et nous sommes heureux de pouvoir féliciter le professeur Bütschli d'avoir eu la force et la patience nécessaires pour la mener à bonne fin.

F. D.

A. Zune. — **Traité de microscopie médicale et pharmaceutique.** Un vol. petit in-8 de 130 pages, orné de 41 fig., 1889. — Henri Lamertin, Bruxelles. — J. B. Baillière et fils, Paris.

Ce volume est le premier fascicule d'un ouvrage complet qui paraîtra à périodes très rapprochées, sur les applications du microscope aux sciences médicales et pharmaceutiques. M. A. Zune est un chimiste et un micrographe trop connu pour que nous ayons besoin de vanter ses talents et en particulier le don qu'il possède de vulgariser en les exposant clairement, les questions difficiles relatives à la chimie et la microscopie. Son livre écrit avec élégance, s'adresse non pas aux micrographes, depuis longtemps rompus aux travaux de laboratoire, mais à ceux qui désirent le devenir.

Ce premier fascicule est consacré à la description élémentaire du microscope et de ses appareils accessoires. Il est toujours délicat de donner un conseil sur le choix d'un de ces instruments, aussi M. Zune pour se tirer de cet embarras inévitable, énumère les maisons les plus recommandables de France et de l'Etranger ; celles de MM. Nachet, Bezu, Hausser et Cie à Paris, celle de Reichert à Vienne, de Zeiss à Iéna, d'Hartnack à Postdam, de Himmler à Berlin, de Leitz à Wetzlan et enfin de M. Dumaige à Paris. En omettant dans cette liste d'habiles constructeurs la maison Vérick à Paris, M. Zune a certainement commis une erreur involontaire, car mon laboratoire à acquis à cette maison plusieurs microscopes d'une mécanique irréprochable, et des objectifs à immersion homogène tels qu'on en trouverait difficilement de meilleurs en France.

M. Zune initie ensuite le lecteur aux petites opérations de microscopie, à la mesure du grossissement, au maniement de l'éclairage, de la chambre claire, etc., à la fabrication des préparations, et termine ce chapitre instructif en énumérant les précautions que doit prendre tout opérateur soigneux pour conserver l'instrument qui sert à ses investigations. Le dernier chapitre traitant des réactifs et de la verrerie accessoire est peut-être un peu trop bref, mais nous sommes persuadés que dans les fascicules qui restent à paraître, il en sera plus longuement parlé au moment de la description des méthodes particulières à telles ou telles études microscopiques.

En somme, l'ouvrage que nous signalons est précieux par la sobriété même des détails scientifiques qu'il renferme, il est donc à la portée des commençants et ne ressemble nullement à ces traités *élémentaires*, bourrés de formules algébriques et de figures géométriques propres à effrayer les amateurs, et qui pour les gens du métier sont trop souvent un masque transparent derrière lequel s'abrite l'ignorance. A chacun selon ses moyens. Nous souhaitons au livre de M. Zune le succès qu'il mérite réellement, et nous avons la certitude que son prix modeste lui vaudra de nombreux souscripteurs. Dr M.

PUBLICATIONS RÉCENTES

PROTOPHYTES ET PROTOZOAIRES

Overton. — Beitrag zur Kenntniss der Gattung Volvox. Contribution à la connaissance du genre V. (*Botanisches Centralblatt*, 1889, n° 32, 33).

Klein. Luwig. — Morphologische und biologische Studien über die Gattung Volvox. Études morphologiques et biologiques sur le genre V. (*Pringsheim Jahrb für Wiss Botanik Bd* XX, Heft. 2).

W. Warlich. — Anatomische Eigenthumlichkeit einer Vampyrella. Particularités anatomiques d'une Vampyrella (*Berichte der deutschen Botanischen Gesellschaft, Bd.*, VII, Heft 7, 1889).

C. H. Kain and E. A. Schultze. — A fossil marine diatomaceous deposit from Atlantic City. Dépôt fossile de diatomées marines d'.. (*Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 1889, August).

C. de Bruyne. — De quelques organismes inférieurs nouveaux. Communication préliminaire (*Bulletin de l'Académie royale de Belgique*, 3e série, t. XVIII, n° 7, 1888).

Lanzi Mat. — Le Diatomei fossili della Via Aurelia (*Atti dell' Acc. pontif. dei Nuovi Linea*, XLII, 1889).

Alexander Artari. — Morphologische und biologische Studien ueber *Nuclearia delicatula*. Études morphologiques et biologiques sur N. (*Zoologisch. Anzeiger*, XII Jahrg. 5 August, 1889, n° 413, p. 408).

Grassi. — Ueber *Grassia ranarum* (Fisch. *Botanischen Centralblatt.* IX *Bd.*, 15 septembre 1889, n° 14, p. 424).

P. A. Dangeard. — Étude du noyau dans quelques groupes inférieurs de végétaux (*Le Botaniste*, 3e fascicule, 1re série, 1er septembre 1889).

J. Kunstler. — Sur un nouveau *Proteromonas* (*Comptes rendus, Acad. des Sciences*, n° 15, 7 octobre 1889, p. 578).

Dr W. Schewiahoff. — Beitrage zur Kenntniss der holotrichen ciliaten. Contribution à la connaissance des ciliés holotriches. Mit 7 Tafeln, 77 pages, 1889 (*Bibliotheca zoologica Orig. abhandlungen ans dem gesanunt gebiets der Zoologie heransgegeben von Leuckart und Carl Chum. Th. Fischer. Cassel Verleg*).

Maupas. — Sur la Multiplication agame de quelques Métazoaires inférieurs (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CIX, p. 270).

BACTÉRIOLOGIE

Verneuil. — Propriétés pathogènes des microbes contenus dans les tumeurs malignes (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CIX, p. 349).

C. H.-H. Spronck. — Le poison diphtérique considéré principale-

ment au point de vue de son action sur le rein (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CIX, p. 260).

Richard et Chantemesse. — Désinfection des matières fécondes au moyen du lait de chaux (*Revue d'hygiène publique*, juillet 1889).

J. Forster. — Over de inwerking van Keu Kenzont op hileven van bactérien. Action du chlorure de sodium sur la vie des microorganismes (*Neder Tyschr. V. Geneesk*, août 1889).

Slater. — A case of spreacting emphysematons gangrene with remarks on its micro-pathology. — Un cas de gangrène gazeuse généralisée avec remarques sur la pathologie microbienne de cette affection (*The Lancet. july* 1889).

Vignal. — Influence de l'alimentation d'un bacille sur les diastases qu'il secrète (*Arch. de méd. expérimentale et d'anatomie pathologique*, juillet 1889).

Guntner, C. — Die wichtigsten Vorkommnisse des lahres 1888 auf dem Gebiete der Bacteriologie. Les faits les plus importants dans le domaine de la bactériologie pour l'année 1888 (*Deutsche med. Wochenschrift*, nos 30-33 et 35).

O. Schulez. — Ueber den Einfluss der Microorganismen auf die im Erdboden stattfindende Nitrification. De l'influence des microorganismes sur la nitrification du sol (*Münschener med. Wochenschrift*, 1889, n° 33, p. 574-575).

Kischensky. — Ueber Actinomyeesreinkulturen. Sur les cultures pures de l'actinomyces (*Archiv. für exper. Pathol. u. Pharmakol*, XXVI, 1889, fasc. 1/2, p. 79).

Wertheim, E. — Bakteriologische Untersuchungen über die Cholera gallinarum. Recherches bactériolo. sur le choléra des poules (*Archiv. für exper. Pathol. u. Pharmakol.*, XXVI, 1889, fasc. 1/2, p. 61).

Wysokowicz. — Ueber die Passirbarkeit der Lungen für die Bakterien. Sur la perméabilité des poumons pour les bactéries. *Mittheilungen aus Dr Brehmer's Heilanstalt in Gœrbersdorf*, p. 297. Wiesbaden (*Bergmann*), 1889.

Kastner, W. — Experimentelle Beiträge zur Infectiosität des Fleisches tuberculöser Rinder. Contributions expérimentales concernant la nature infectieuse de la viande des bœufs tuberculeux (*Münschener med. Wochenschrift*, 1889, nos 34 et 35).

Dr V. Budde. — Die Bedeutung der Spannkraft, Temperatur u. Bewegung des Dampfes bei Desinfection in Dampfapparaten. De l'importance de la tension de la vapeur, de sa température et de son mouvement pour la désinfection dans les appareils à vapeur. (*Archiv. für Hygiene*, IX, 3, p. 292).

Dr Ferd. Hueppe. — Einige Gesichtspunkte für die hygienische Beurtheilung von Kläranlagen. Considérations sur la valeur hygiénique des établissements servant à la clarification des eaux de vidange (*Archiv. für Hygiene*, IX, 3, p. 271).

Dr Julius Heller. — Zur Kenntniss des Moschuspilzes. Contribution à la connaissance de la moisissure musquée (*Centralbl. für Baskteriol u. Parasitentenk.*, VI, p. 97).

N. Raczynski. — Zur Frage über die Microorganismen des Verdauungskanals. Sur les microorganismes du tube digestif (*Dissertation doctorale de l'Académie de médecine militaire de Saint-Pétersbourg*).

Anton Elsenberg. — Ueber den Favuspilz. Sur le champignon du favus (*Archiv. f. Dermatologie u. Syphilis*, 1889, 2, p. 179).

H. Quincke. — Doppelinfection mit favus vulgaris u. favus herpeticus. Double infection avec le f. vulg. et le f. herpet. (*Monatshefte f. prakt. Dermatologie*, VIII, 1889, 2).

E. Wittram. — Bacteriologische Beiträge zur Aetiologie des Trachoms. Contributions bactériol. à l'étiologie du trachome (*Dorpat, E. J. Karow.*, 1889).

A. Celli e G. Guarneri. — Sull' etiologia dell' infezione malarica. Sur l'étiologie de l'infection paludéenne (*Annali di Agricoltura*, 1889).

Prof. Camillo Golgi. — Il fagocitismo nell' infezione malarica. Le phagocytisme dans l'infection paludéenne (*Riforma medica*, mai 1888).

W. Dönitz et O. Lassar. — Ueber Mycosis fungoides. Sur le Mycosis fungoïdes (*Virchows Archiv*, CXVI, 2).

De Blasi, L. e Russo-Trasalli, G. — Rendiconto delle vaccinazioni profilattiche ed esperimenti eseguiti nell' istituto antirabbico e di microscopia clinica della citta di Palermo, 1889. Compte rendu des vaccinations prophylactiques et des expériences exécutées à l'Institut antirabique de Palerme (*Palerme*, 1889).

Rohrer. — Ueber die Pathogenität der Bakterien bei eitrigen Processen des Ohres. La nature pathogène des bactéries dans les processus suppuratifs de l'oreille (*Tagebl. d.* 61 *Versammlg. deutscher Naturforscher u. Aerzte in Coeln.*, 1889, p. 217).

E. Enderlen. — Ueber den Durchtritt von Milzbrandsporen durch die intacte Lungenoberfläche des Schafes. Sur le passage des spores charbonneuses par la surface intacte du poumon du mouton (*Deuts. Zeitschrift für Thiermed.*, XV, 1/2, p. 50).

Schmitt. — Ueber die Schutzimfungen gegen Rauschbrand. Des vaccinations contre le charbon symptomatique (*Tagebl. d.* 61 *Versammlg. deutscher Naturforscher u. Aerzte in Coeln.*, 1889, p. 320).

M. Rieck. — Eine infectiöse Erkrankung der Kanarienvögel. Une maladie infectieuse des canaris (*Deutsche Zeitschrift für Thiermed*, XV, 1889, 1/2, p. 68).

N. Wolkowitsch. — Das Rhinosclerom. Eine Klinische, mikros. kopische u. bakteriologische Studie. Le rhinoclérome, étude clinique, microscopique et bactériologique (*Archiv. für klin. Chirurgie*, XXXVIII, 2 et 3).

Dr N. Protopopoff. — Ueber die Hauptursache der Abschwächung des Tollwuthgiftes. Sur la cause principale de l'atténuation du virus rabique (*Centralbl. für Bakteriol, u. Parasit.* VI, p. 129).

Prof. D. F. Ludwig. — Weitere Mittheilungen über Alkoholgährung, u. die Schleimflüsse lebnder Bäume. Nouvelles communications sur la fermentation alcoolique et les flux visqueux des arbres vivants (*Centralbl. für Bakteriol. u. Parasit.*, VII, p. 133 et 162).

A. Baginsky. — Zum Grotenfelt'schen Bacillus der rothen Milch. Sur le bacille du lait rouge de Grotenfelt (*Deutsche med. Wochenschrift*, 1889, 11).

Sormani. — Azione dei suchi digerenti sul virus tetanigeno. De l'action des sucs digestifs sur le virus tétanigène (*Riforma medica*, 1889, *Aprile*).

Sternberg Geo. M. — The etiology of croupous pneumony. Étiologie de la pneumonie croupeuse (*The Lancet*, 1889, I, nos 8, 9, 10, p. 370, 429, 474).

E. Hess. — Ueber Rauschbrand. Sur le charbon symptômatique (*Thiermedicinische Vorträge , herausgegeben von G. Schneidenmühl*, I, 4).

E. Roth. — Ueber den gegenwärtigen Stand der Lehre von der Disposition u. Immunität. Sur l'état actuel de la doctrine de la disposition et de l'immunité (*Deutsche Vierteljahrsshcr. f. öff. Gesundheitspfl.* 1889, 3, p. 444).

A. Scheibe. — Mikroorganismen bei akuten Mittelohrerkrankungen. Des microorganismes dans les otites moyennes aiguës (*Zeitschrift f. Ohrenheilkunde*, XIX, 4, p. 293).

M. Balizky. — De l'action du bacille de la morve sur le chien (*Travail fait au laboratoire du prof. Rajensky, directeur de l'Institut vétérinaire de Charkow. — En russe*).

P. Tiemann et A. Gaertner. — Die chemische und mikroskopisch-bacterio-logische Untersuchung des Wassers. L'examen chimique microscopique et bactériologique de l'eau. — Brunswick, F. Vieweg, 1889.

C. Braem. — Untersuchngen über die Degenerations-Erscheinungen pathogener Baktrien im destillirten Wasser. Recherches sur

la dégénérescence des bactéries pathogènes dans l'eau distillée, br. de 62 p., Königsberg, Kosh, 1889.

L. Heim. — Nachweis von Typhus-Bakterien. De la recherche des bactéries du typhus (*Münchener med. Wochenschrift*, 1889, n° 24).

Dr Joh. Petruschky. — Die Einwirkungen des lebenden Froschkörpers auf den Milzbrandbacillus. L'action du corps vivant de la grenouille sur la bactéridie charbonneuse (*Zeitschrift für Hygiene*, VII, p. 75).

M. Nencki. — Untersuchungen über die Zersetzung des Eiweisses durch anaërobe Spaltpilze. Recherches sur la décomposition de l'albumine par les schizophytes anaérobies (*Sitzungsberichte d. Kais. Akademie der Wissenschaften in Wien, mathem. naturw. Classe*, XCVIII, 2, mai 1889).

M. Nencki et N. Sieber. — Zur Kenntniss der bei der Eiweissgährung auftretenden Gase. Contribution à la connaissance des gaz produits dans la fermentation de l'albumine (*Sitzungsberichte d. Kais. Akademie der Wissenschaften in Wien, mathem-naturw. Classe*, XCVII, 2, mai 1889).

M. Nencki et N. Sieber. — Ueber die Bildung der Paramilchsäure durch Gährung des Zuckers. Sur la formation de l'acide paralactique dans la fermentation du sucre (*Aus den Sitzungsberichten d. Kais. Akademie der Wissenschaften in Wien, Mathem-naturw. Classe*, XCVIII, 2, mai 1889).

Bruno Krüger. — Die physikalische Einwirkung von Sinkstoffen auf die im Wasser befindlichen Microorganismen. L'action physique des matières en décantation sur les microorganismes tenus en suspension dans l'eau (*Zeitschrift für Hygiene*, VII, p. 86).

Strelitz. — Bakteriologische Untersuchungen über den Pemphigus neonatorum. Recherches bactériologiques sur le pemphigus des nouveau-nés (*Archiv. für Kinderheilkunde*, XI, 1889, p. 7).

B. Paltauf u. A. Heider. — Der bacillus maïdis (*Cuboni*) u. seine Beziehungen zur Pellagra. Le bacille du maïs de Cuboni et ses rapports avec la pellagre. (*Wien. med. Jahrbücher*, 1888, 8, p. 383).

F. Siebenmann. — Die Schimmelmycosen des menschlichen Ohres. Les mycoses de l'oreille humaine (Wiesbaden, Bergmann, 1889, 118 p.).

L'Éditeur-Gérant:

Georges CARRÉ.

Tours. — Imp. DESLIS FRÈRES

ANNALES

DE MICROGRAPHIE

DE L'ANTISEPSIE DES MATÉRIAUX DE CONSTRUCTION (1)

PAR

M. LE Dr VICTOR BOVET

Depuis que l'on sait que c'est à des microbes que sont dues un grand nombre de maladies, la thérapie, en chirurgie comme en médecine interne, s'attache essentiellement à combattre les microorganismes. Les progrès les plus réels que fait en ce moment l'hygiène consistent à déterminer les conditions biologiques de ces diverses espèces de vibrions et à trouver les moyens d'empêcher leur développement et d'entraver leur propagation. Pour nous servir d'une comparaison prise dans la pratique journalière, nous citerons la tuberculose qui est à la fois du domaine de la chirurgie et de la médecine. Les travaux de Cornet ont démontré que cette maladie est transmissible du malade à l'homme sain par les matières expectorées ; cet auteur a prouvé que la literie, le linge de corps, les habits des malades sont autant de nids à infection, dangereux pour ceux qui s'en approchent et que la première mesure de sûreté pour éviter la propagation de cette maladie, qui à elle seule cause le tiers des décès, consiste dans une scrupuleuse désinfection de tout ce qui est mis en contact avec des tuberculeux ; désinfection du linge, des habillements, des ustensiles, des meubles, en un mot de tout ce dont le malade fait journellement usage.

(1) Ces expériences ont été faites à Berne dans le laboratoire de M. le professeur M. de Nencki.

Il n'est pas douteux que les habitations soient que trop souvent le réceptacle de germes infectieux qui dans certaines circonstances peuvent avoir une influence nuisible sur ceux qui les habitent. Les affections chirugicales qui reparaissent toujours à nouveau dans nos vieux hôpitaux, les maladies infectieuses qui se déclarent périodiquement dans les locaux toujours les mêmes de nos casernes, nous en donnent déjà la preuve. Ces germes d'infections ne sont pas seulement dans l'air de nos habitations qu'il serait facile, par le fait d'une bonne ventilation de ramener au même degré de pureté, ou à peu près, que l'air extérieur. Emmerich (1) découvrit des microbes de la pneumonie dans les plâtres d'une vieille prison, Utpadel (2) trouva des bacilles pathogènes dans le remplissage des planchers. Ce n'est donc pas exclusivement à la surface des parois intérieures des locaux habités où leur présence a été démontrée par Esmarch (3), qu'il nous faut chercher ces êtres dangereux, il s'en trouve aussi dans l'intérieur de nos matériaux de construtions. Et comment du reste en serait-il autrement, dans nos chambres, en général et plus particulièrement dans nos salles de malades, nos dortoirs de casernes et d'autres locaux constamment habités? pourrons-nous jamais éviter que des matières excrémentitielles ou expectorées ne viennent parfois souiller les parois et les planchers, et que les germes qui y sont contenus ne pénètrent dans l'intérieur de ces matériaux poreux? Si nous songeons au nombre considérable de bacilles présents dans les crachats des phtisiques, dans les excréments des typhiques, nous sommes en droit d'admettre que parmi les germes qui pénétrent dans nos murailles et nos planchers, il doit s'en trouver de pathogènes.

Les travaux déjà mentionnés de Cornet, les efforts de Dettweiler (4) pour introduire l'usage d'un flacon, crachoir de poche, si je puis m'exprimer ainsi, pour les phtisiques afin d'éviter la propagation de cette affection, prouvent com-

(1) *Naturforscher Versammlung*, Berlin 1886.
(2) *Archiv. fur Hygiene* B. VI. 3.
(3) *Zeitschrift fur Hygiene.* B. II. P. 490.
(4) VIII Congress für muere médicin, Wiebaden 1889.

bien dans le monde médical le besoin se fait sentir de remédier à ces inconvénients. Il y a longtemps déjà, avant même, qu'on ait pu préciser la nature de ces miasmes, que la remarque avait été faite que les ouvriers occupés à démolir de vieux hôpitaux ou à en recrépir les parois intérieures, étaient souvent atteints de maladies. Reprenant des expériences déjà faites par plusieurs auteurs, nous pratiquâmes sur divers milieux des inoculations avec des fragments pris à une certaine profondeur dans les plâtres, les planchers et les remplissages de maisons depuis longtemps habitées ; ces inoculations donnèrent si souvent des résultats positifs que nous en vînmes à nous convaincre par nous-même que non seulement la surface de nos parois, mais encore l'intérieur des matériaux de construction étaient semés de germes pouvant devenir la cause de maladies de diverse nature. Nous poussâmes aussi nos recherches sur les matériaux à bâtir bruts. Le gypse en poudre dont on fait les plâtres de nos murs et les plafonds n'est pas stérile avant d'être brassé. Les inoculations que nous avons pratiquées sur de la gélatine, de l'agar, des bouillons avec du gypse en poudre tel qu'on le trouve dans le commerce, nous ont souvent donné des résultats positifs ; quelquefois il ne s'agissait que de moisissures, mais le plus souvent les cultures renfermaient des bacilles ou bien un mélange de bacilles et de micrococcus ; et si nous n'avons pas soumis ces cultures à une épreuve relative à leur pathogénité nous sommes bien en droit d'admettre que les germes de l'air tombés dans le gypse peuvent être parfois de nature dangereuse. Au moment où le gypse est délayé avec de l'eau ordinaire, et l'on sait que l'on ne se sert pas toujours pour cette opération d'eau de source la plus pure, mais bien souvent d'eau riche en microbes provenant de mauvaises citernes ou d'étangs, il doit nécessairement pénétrer dans la masse du plâtre une quantité de germes qui dans ce milieu indifférent pourront attendre une occasion de se transporter sur un terrain plus propice à leur développement. Assurément il en est ainsi et les microorganismes ne sont nullement compromis dans leur vitalité par le fait qu'ils sont délayés avec le gypse, les expériences suivantes nous l'ont prouvé. Si l'on transporte des particules prises à 2, 3 et 4 milli-

mètres de profondeur dans des plaques de gypse coulées 2, 4, 8 jours auparavant, sur de la gélatine ou du bouillon, presque toutes ces inoculations donnent des cultures de micrococcus ou de bacilles généralement mélangés. Une preuve plus irréfutable encore nous en fut donnée par l'essai suivant : au lieu de délayer le gypse avec de l'eau ordinaire nous fîmes usage dans ce but de cultures de divers microbes délayées dans de l'eau stérilisée, puis après quelques jours les blocs de gypse ainsi obtenus étant secs, des inoculations furent pratiquées avec des fragments pris dans l'intérieur du plâtre ; le plus souvent le résultat fut une culture du microbe employé, soit pure, soit mélangé à d'autres organismes déjà contenus dans le gypse en poudre. La même expérience répétée quinze jours et un mois plus tard donna encore des résultats positifs. Ainsi donc les germes de certains vibrions non seulement ne sont point détruits par le délayement avec le gypse, mais ils peuvent se conserver longtemps vivants dans cette masse.

Une autre question : Un liquide étant mis en contact avec le plâtre de nos parois, les microbes contenus dans ce liquide peuvent-ils pénétrer dans la profondeur de cette masse poreuse? Les travaux relatifs à la filtration de l'eau de Tiegel, Pasteur et Joubert (1), Miquel et Benoist (2), Flügge et Sirotinin (3), de Chamberland (4), de Plagge dont quelques-uns rapportent aussi des essais faits avec des filtres de gypse, prouvent que pour retenir sûrement les microorganismes les filtres doivent avoir une certaine épaisseur et que par conséquent les microbes pénètrent à une certaine profondeur dans la masse du filtre. Nos essais nous ont amené aux mêmes résultats. Un certain nombre de filtres d'une épaisseur variant entre 3 et 15 millimètres en plâtre coulé furent stérilisés à une température de 160° dans l'étuve et servirent à filtrer des cultures de divers microbes diluées dans de l'eau stérilisée ; après quoi, le liquide filtré ainsi que le gypse pris à la surface extérieure et dans l'épaisseur

(1) Comptes rendus 1877, 84 P. 900.
(2) *Bulletin de la Société Chimique de Paris*, 1881.
(3) *Zeitschrift für Hygiene*, 1888.
(4) *Comptes rendus de la Société biologique*, 1874 et 1885.

même du filtre, furent inoculés sur divers milieux nutritifs. Les résultats furent en somme les suivants: Tous les microbes ne pénètrent pas avec la même facilité à travers la masse poreuse du gypse, ces différences peuvent être attribuées à la forme, à la dimension et au plus ou moins de mobilité de ces organismes. Nous avons remarqué par exemple que les saccharomyces volumineux montrent moins de tendance à traverser le gypse que les espèces plus petites. Lorsqu'on fait usage de filtres d'une épaisseur peu considérable il n'est pas rare de voir les microbes filtrer à travers toute l'épaisseur du gypse de sorte qu'on en retrouve dans l'eau filtrée qui donne des cultures des mêmes microbes. En faisant usage de filtres plus épais l'on n'observe pas ce phénomène, les microorganismes sont arrêtés dans le plâtre.

Nous ferons remarquer que nous n'avons jamais filtré que de petites quantités de liquides et que le filtrage a toujours eu lieu sans pression et sans aspiration. Le fait qu'une quantité de liquide remplissant les 8/10 de la capacité du filtre mettait de 16 à 24 heures pour traverser la masse, prouve que dans tous les cas les filtres étaient sans défauts et suffisamment denses. Nous avons également essayé d'arroser de petits blocs de gypse avec des liquides contenant des microbes de natures diverses, après 2, 4, 8, 15, 30 jours, des fragments pris dans l'intérieur du gypse furent inoculés sur de la gélatine, de l'agar, etc., presque toujours nous obtînmes des cultures du microbe employé, pures, si le gypse avait été stérilisé à l'étuve avant d'être infectée, mélangées avec d'autres microbes déjà existant dans le gypse s'il avait été fait usage de blocs non stérilisés. Il est donc évident que ces organismes peuvent s'infiltrer dans la masse du gypse et s'y conserver longtemps s'ils y ont pénétré sous forme de spores.

De même que d'autres matériaux de construction, la pierre poreuse, la molasse, par exemple, dont la porosité égale presque celle du gypse, peuvent s'imbiber de liquides et absosber les germes qui y sont contenus.

Quant au bois, il est clair que les bois durs très peu poreux ne sont guère susceptibles d'imbibition, surtout lorsque leur surface est revêtue d'un vernis ou d'un enduit

quelconque. Le bois de sapin essentiellement employé pour les charpentes et boiseries tant qu'il n'est pas trop ancien et qu'il contient encore une grande quantité de matières résineuses se montre assez réfractaire à l'absorption de microbes ainsi que de nombreux essais nous l'ont prouvé. Il faut croire aussi que certaines substances contenues dans le bois exercent sur ces organismes une action antiseptique. Il n'en est pas de même du bois plus ancien moins riche en résine et souvent criblé de fissures très fines de nos planchers ; souvent on obtient des résultats positifs en inoculant des particules de bois de ce genre prises à 1 ou 2 millimètres de profondeur.

Est-il besoin de démontrer que les draperies et tapisseries qui parfois revêtent nos murs et qui par le fait qu'on les change ou qu'on les lave rarement, font réellement partie de nos bâtiments, peuvent s'imbiber de liquides infectés et recéler des germes d'autant plus dangereux que le moindre choc les peut mettre en mouvement et faire tourbillonner dans l'air. Ces étoffes qui peuvent ainsi devenir de vrais nids à microbes ne mériteraient-elles pas l'honneur d'une imprégnation antiseptique? Enfin nos papiers peints qui tapissent la plus grande surface de nos intérieurs offrent, tant à cause de la porosité du papier lui-même, que par la présence de l'empois peu aseptique avec lequel ils sont fixés, une faible garantie au point de vue de la salubrité de nos appartements.

En présence de ces faits on peut bien dire que de nos jours encore on prend trop peu garde de n'introduire dans nos constructions que des matériaux ne recélant pas des germes d'infection. Bien plus nous croyons ne pas aller trop loin en prétendant que pour répondre aux exigences de l'hygiène moderne il ne suffit pas qu'un bâtiment soit bien orienté, bien aménagé, que la ventilation y soit assurée, que les planchers et parois puissent en être facilement nettoyées, il faut que de prime abord il soit construit avec des matériaux rigoureusement aseptiques et pour les hôpitaux, les casernes, etc., en un mot, toutes les habitations où les chances d'infections sont plus grandes, de plus avec des matériaux autant que possible antiseptiques.

Certains médecins se sont déjà occupés de cette ques-

tion ; Guttmann et Merke ont conseillé d'asperger les planchers et les murailles avec une solution de sublimé corrosif au 1000e, et pour neutraliser l'effet dangereux de cette substance ils recommandent de badigeonner ensuite les parois avec une solution de carbonate de soude ; c'est ainsi que ces auteurs se voient contraints de paralyser bientôt l'effet désinfectant du plus puissant de nos antiseptiques à cause de l'influence fâcheuse qu'il pourrait exercer sur la santé et il est hors de doute que, de même que l'on défend l'usage du vert de Schweinfurth pour les papiers peints à cause de l'arsenic qu'il contient, l'emploi du sublimé ne saurait être toléré pour la désinfection des locaux habités. Là gît la difficulté, car veut-on rendre des matériaux de constructions aseptiques, voire même jusqu'à un certain point antiseptiques en y introduisant ou en les imprégnant avec des substances désinfectantes, on ne manque pas d'être embarrassé, le choix étant fort restreint.

Il faut renoncer d'abord à toutes les substances qui peuvent exercer une influence fâcheuse sur la santé, puis à tous les antiseptiques volatils ou qui répandent une odeur plus ou moins forte, enfin à tous ceux qui mélangés aux matériaux de constructions les altèrent ou se décomposent eux-mêmes. On le voit, ces considérations nous font éliminer déjà une série d'agents antiseptiques tels que le sublimé, le carbol, le thymol, etc.

A titre d'essai nous avions coulé des blocs et des plaques de gypse délayé avec des solutions de sublimé à 1/2 p. 100 et d'acide salicylique à 5 p. 100, ces plâtres restèrent aseptiques pendant le temps que durèrent nos expériences ; bien plus, arrosés avec des liquides renfermant des microbes divers et inoculés ensuite sur des bouillons ils ne donnèrent jamais de résultats, ils étaient donc antiseptiques.

L'acide salicylique libre communique au gypse une teinte rouge assez prononcée et détériore la plupart des couleurs employées pour la peinture en bâtiment et les papiers peints. Nous dûmes donc renoncer à l'emploi de cette substance et cela d'autant mieux que des expériences déjà anciennes de Kolbe semblaient prouver que cet acide ne saurait être employé pour donner au bois des propriétés antiseptiques ; des fûts et d'autres vaisseaux de bois que

cet expérimentateur avait fait imprégner de cette substance ne résistèrent, en effet, pas longtemps à la pourriture, la proportion d'acide salicylique contenu dans le bois subissant une rapide diminution.

Vu les mauvais résultats au point de vue antiseptique que nous avons obtenus nous même avec cette substance et eu égard à la publication de M. le Dr Viquerat, nous dûmes renoncer également au fluosilicate de soude ($SiFl^6Na^2$) avec lequel nous avions déja fait quelques essais.

Nous nous vîmes donc contraints pour nos expériences de préparer des substances nouvelles et de les soumettre à un examen touchant leurs propriétés antiseptiques; nous fîmes, en outre, usage d'une substance déjà connue, l'acide oxynaphtoïque qui d'après les travaux de Ellenberger et Hofmeister ne le céderait en rien à l'acide salicylique au point de vue de ses propriétés désinfectantes. Les substances que nous avons employées sont le salicylate de zinc, le salicylate de plomb, l'acide oxynaphtoïque et les sels de zinc et de plomb de cet acide.

1° *L'acide α oxynaphtoïque* ou naphtol-carbonique a la formule $C^{11}H^8O^3$; très peu soluble dans l'eau, il ne se dissout que dans 20.000 fois son volume d'eau à 17° et dans 2.000 fois son volume d'eau bouillante, il se dissout facilement dans l'éther, l'alcool, le benzol, les alcalis caustiques et les carbonates alcalins, il se sublime à 90 et 100°, se liquéfie à 180° en dégageant de l'acide carbonique; avec le perchlorure de fer il donne une coloration bleu foncé ;

2° *Le α naphtol-carbonate de zinc*, poudre blanche cristalline, se dissout dans 1.010 fois son poids d'eau à 13° et 123 fois son poids d'eau bouillante; avec le chlorure de fer il donne comme l'acide libre une coloration bleue ;

3° *Le α naphtol-carbonate de plomb*. moins soluble que le sel de zinc, se dissout dans 3.070 volumes d'eau à 15° et dans 560 à 100° ;

4° *Le salicylate de zinc*, dont la formule est $Zn(C^7H^5O^3)2 + 3H^2O$, forme des aiguilles rhomboïdes qui se dissolvent dans 20 fois leur volume d'eau à la température ordinaire et dans trois parties d'eau bouillante, ce sel est également soluble dans l'alcool et l'éther et, comme la plupart des sels métalliques, il présente une légère réaction acide ;

5° *Le salicylate de plomb* $Pb\ (C^7H^5O^3)\ 2 + 3H^2O$, poudre blanche cristalline peu soluble (une partie dans 450 parties d'eau à 13° et dans 37 d'eau bouillante). Ces combinaisons de l'acide salicylique se reconnaissent à la coloration violette qu'elles donnent en présence du perchlorure de fer.

Les essais relatifs aux propriétés antiseptiques de ces corps furent faits d'après les deux méthodes suivantes :

a. Des matières facilement putrescibles, du pancréas, de la rate, de la viande de bœuf hachée fraîche et déjà en état de putréfaction furent plongés (20 grammes p. 100 grammes de solution), dans des solutions de concentration variées de ces substances et le tout abandonné à l'air dans des ballons ouverts; après 4, 8, 15 jours le contenu fut examiné au microscope et de petits fragments inoculés sur des bouillons, de la gélatine liquéfiée, de la décoction de levure de bière, etc., afin de déterminer l'effet de chacune des solutions employées. Ces substances furent aussi essayées en nature en poudres mélangées dans des proportions exactes à la viande hachée.

b. Des cultures de divers microbes submergées et mélangées intimement avec des solutions diverses des substances en question furent réinoculées après 10, 30, 60 minutes et après 24 heures sur des bouillons, etc., maintenus ensuite à la température voulue au thermostat. Il est à remarquer que pour avoir des résultats concordants avec ce procédé il ne faut pas se contenter de verser la solution à l'essai sur une culture sur terrain solide (gélatine ou agar), de cette façon il arrive souvent que la solution ne pénétrant pas du même coup dans toutes les parties de la culture des microbes moins longtemps immergés, restent plus longtemps aptes à être réinoculés ; il faut faire usage de cultures liquides ou délayer les cultures solides dans la solution antiseptique, de façon à ce que toutes les parties en soient atteintes. Pour les réinoculations nous nous sommes toujours servis de bouillons peptonisés, glycérinés ou d'autres liquides nutritifs; de cette façon la quantité minime il est vrai (1/4 à 1/2 goutte) de la solution antiseptique inoculée avec les bactéries est immédiatement diluée dans 500 à 100 fois son volume de bouillon et ne peut plus

avoir aucune influence sur le développement des microbes qui n'auraient pas été tués avant leurs réinoculations. Nos expériences ont porté sur des bactéries d'espèces variées, aussi sur des cultures contenant des spores, souvent nous nous sommes servis de microbes faciles à reconnaître à cause de la fluorescence ou de la coloration que prennent leurs cultures, de cette façon toute chance d'erreur due à des microbes introduits par accident est écartée. Nous donnons plus loin un tableau relatant une partie de ces essais qui nécessitèrent à eux seuls plus de 1.000 inoculations. Les résultats obtenus sont en somme les suivants :

Le salicylate de plomb n'a aucun effet antiseptique, le salicylate de zinc par contre est un agent d'une valeur réelle. Une solution à 1 p. 100 de ce sel n'empêche pas seulement la putréfaction de la viande fraîche mais arrête aussi la décomposition de la viande en putréfaction et tue les microorganismes qui s'y sont développés. Les cultures immergées de cette solution deviennent non réinoculables en moins de 24 heures. Une solution au 5 p. 100 tue les microbes en moins de 10 minutes.

De la série des naphtol-carboniques, l'acide seul est antiseptique, les sels de zinc et de plomb ne le sont pas. Les résultats que nous avons obtenus avec cet acide concordent à peu près avec ceux des auteurs déjà cités ; une solution à 0,5 p. 100 ne tue pas les microbes développés dans la viande putréfiée, ces organismes restent réinoculables, la solution à 1 p. 100 par contre les tue sûrement. Cette substance possède donc des propriétés analogues à celles du salicylate de zinc. Nous avons indiqué plus haut le peu de solubilité de l'acide naphtol-carbonique, c'est donc un euphémisme que de parler de solutions à 5 p. 100 et à 1 p. 100, il s'agit ici de mélanges de cette substance en suspension dans l'eau.

Comme agent antiseptique l'acide naphtol-carbonique aura la préférence sur le salicylate partout où l'on aura besoin d'une substance peu soluble, pour des matériaux de constructions souvent en contact avec l'eau par exemple ; si cet acide n'exerce pas des effets nuisibles sur l'organisme on pourrait peut-être l'employer pour des pansements à demeure ; nous n'avons pas encore fait d'essais dans ce sens et

nous ne croyons pas qu'il en ait été fait d'autre part. Le salicylate de zinc, au contraire, aura le pas sur le naphtol-carbonique là où il s'agira de tremper, d'imprégner des matières ; on pourrait très bien en imprégner des tissus, des tentures, des habits, des linges, des pièces de pansements, des papiers. Nous avons fait quelques essais relatifs à l'emploi de cette substance comme antiseptique chirurgical et nous nous sommes servis avec avantage de gaze, de jute et de ouate imprégnées avec une solution à 5 p. 100 de ce sel.

La ouate à pansements imprégnée avec une solution à 5 p. 100 de salicylate contient une fois sèche de 8 à 10 p. 100 de ce sel ; l'analyse de cette ouate nous a prouvé qu'il ne se forme pas ici de combinaison entre le zinc et les éléments de la ouate comme c'est le cas pour le bois, la presque tolalité du sel de zinc se retrouve comme tel dans la ouate, 90 p. 100 environ, le reste passé à l'état d'acide salicylique.

Le salicylate de zinc ne semble pas être dangereux; pendant tout le temps que durèrent ces essais, nos mains furent en contact constant avec des solutions de ce sel sans que nous ayons pu remarquer d'autres inconvénients qu'une certaine desquamation de la paume des mains, nous avons pu injecter à des lapins dans l'estomac, sous la peau et par l'anus des quantités variant entre 5 et 10 centimètres cubes d'une solution à 5 p. 100 et cela 5 ou 6 jours de suite sans qu'il en résultât pour ces animaux aucun malaise appréciable.

C'est aussi avec ces deux substances que furent faits les essais sur les matériaux de construction, les plâtres, les bois, les papiers et les étoffes des tentures.

Après divers essais nous adoptâmes pour le gypse le procédé suivant qu'il serait facile d'appliquer en grand dans la pratique: pour délayer le plâtre il suffit d'employer au lieu d'eau ordinaire une solution saturée, c'est-à-dire à 5 p. 100 de salicylate de zinc; ce plâtre se prend bien, devient dur et sèche facilement, il se colore très légèrement en rose, mais cette coloration disparaît sous l'influence de la lumière du soleil. Nous avons pu déterminer directement la quantité de salicylate contenu dans le plâtre ainsi préparé, 50 grammes de cette masse réduits en poudre, extraits par l'éther et ce dernier évaporé ; le résidu de sali-

cylate de zinc fut de 0,34 grammes, soit 0,68 p. 100 ; le même gypse déjà extrait par l'éther chauffé avec de l'eau additionnée de 5 p. 100 d'acide chlorhydrique et repris par l'éther, l'extrait éthéré contenait 0,46 grammes, soit 0,92 p. 100 d'acide salicylique pur, quantité qui correspondrait à 1,3 p. 100 du sel de zinc. Le plâtre contenait donc 2 p. 100 de salicylate de zinc, une partie du sel employé avait été transformé en salicylate de chaux insoluble dans l'éther. Cette proportion de sel contenu dans le gypse est déjà considérable et égale celle de l'acide salicylique dans beaucoup de pièces de pansement du commerce ainsi que l'ont récemment prouvé des expériences ordonnées par le Gouvernement hollandais.

Les inoculations de ce gypse restées toutes sans résultats prouvèrent son asepticité ; ses propriétés antiseptiques furent démontrées par les essais suivants. Avec du plâtre, délayé comme il est dit plus haut, il fut coulé un certain nombre de plaques d'un décimètre carré de surface et d'un centimètre d'épaisseur environ ; 8, 15, 30 jours plus tard ces plaques furent arrosées avec des cultures diluées ou des bouillons contenant des microbes. Des inoculations pratiquées 2, 3, 4, 8 jours plus tard sur des liquides nourriciers divers, avec des fragments pris dans l'intérieur du plâtre, restèrent stériles tandis que du plâtre non salicylé arrosé avec ces microbes et transplantés sur les mêmes bouillons donnait des résultats positifs. Les microorganismes ou leurs spores avaient donc été tués par le salicylate de zinc contenu dans le gypse. Si, au lieu de prendre des fragments dans l'intérieur, on inocule des particules prises à la surface des plaques on n'obtient des résultats positifs qu'exceptionnellement. lorsque la dilution microbienne employée étant un peu épaisse ou mal délayée, il se dépose à la surface du plâtre des fragments de cultures que l'agent antiseptique ne saurait attaquer.

Pour le bois c'est à un procédé d'imprégnation que nous avons eu recours. De petits blocs de bois de sapin sec de 3 centimètres d'épaisseur sur 10 centimètres de longueur furent plongés pendant un certain temps dans une solution de salicylate de zinc. Des essais avec des solutions de concentration diverses nous ont prouvé qu'une partie, et dans

certains cas, la majeure partie du zinc contenu dans ce sel se combine avec les éléments du bois, peut-être avec la lignine et que c'est principalement de l'acide salicylique libre qui est contenu dans le bois. Si l'on extrait par l'éther du sapin ainsi trempé, séché et réduit en menus fragments, l'extrait éthéré contient essentiellement de l'acide salicylique libre, tandis que l'incinération du bois révèle la présence d'une forte proportion d'oxyde de zinc dans la cendre. Cette combinaison entre le zinc et les éléments du bois nous explique pourquoi la quantité de salicylate et d'acide salicylique contenus dans le bois après l'imprégnation ne dépend que fort peu de la concentration de la solution employée. D'après nos analyses le bois imprégné à chaud pendant une heure dans une solution à 2 p. 100 seulement contient 1,5 p. 100 de son poids d'acide salicylique pur, plus 0,267 de salicylate de zinc, ce qui correspondrait à 2,46 p. 100 de salicylate absorbé.

L'analyse du bois imprégné avec une solution à 5 p. 100 ne donna pas des chiffres beaucoup plus élevés. Le temps ne nous a pas permis de constater si par cette imprégnation et par cette combinaison avec le zinc, le bois acquérait des propriétés anti-putrescibles durables ; la quantité d'acide salicylique libre et de salicylate qu'il contient après l'imprégnation est suffisante pour assurer son antisepticité au début. Cette proportion d'acide salicylique est-elle susceptible de diminuer avec le temps comme c'est le cas pour le bois imprégné avec l'acide salicylique libre? Il ne nous a naturellement pas été possible de le constater.

Ce procédé d'imprégnation par immersion ne saurait être applicable en grand pour nos constructions que pour les bois de dimensions restreintes, pour les poutres et les grandes planches il faudrait avoir recours à un badigeonnage abondant et plusieurs fois répété avec une solution chaude au 4 p. 100 qui donnerait approximativement les mêmes résultats. Sur les planchers cette opération pourrait être répétée de temps à autre, il suffirait de laver parfois les planchers avec une solution de salicylate au lieu de les laver avec de l'eau. Ce procédé aurait le double avantage de maintenir la proportion de la substance antiseptique contenue dans le bois et de détruire les microbes qui se seraient introduits dans les interstices des planches.

On peut imprégner de même la molasse et d'autres matériaux.

Un kilogramme de molasse telle que celle employée pour les constructions, peut absorber 70 c.c. de la solution à 5 p. 100 de ce sel.

Si c'est au moyen de l'acide naphtol-carbonique qu'on veut stériliser le plâtre il n'est pas possible de faire usage d'une solution, il faut mélanger cet acide en poudre avec le gypse avant de le délayer avec l'eau ; ce procédé est, il est vrai, moins commode dans la pratique, mais on pourrait le rendre plus facile en faisant usage de machines pour obtenir un mélange bien homogène. Il n'est pas possible d'ajouter au gypse plus de 2 p. 100 de naphtol-carbonique au maximum, une proportion plus considérable de cette substance, 4 ou 5 p. 100 par exemple, enlève au gypse sa solidité et le rend friable.

Le plâtre mélangé à 2 p. 100 de ce sel prend une couleur brunâtre qui disparaît assez rapidement à la lumière. Des expériences faites de la manière indiquée plus haut pour le plâtre au salicylate nous ont donné des résultats satisfaisants quant aux propriétés antiseptiques de ce plâtre. Nous ne saurions trop recommander aux chirurgiens ces procédés et plus particulièrement l'emploi de la solution au 5 p. 100 de salicylate de zinc pour les appareils inamovibles plâtrés ; beaucoup de praticiens ont eu occasion de déplorer la facilité avec laquelle ces appareils se laissent infiltrer par des liquides, l'urine, les matières excrémentitielles, le pus, qui y pénètrent et s'y décomposent en répandant une odeur désagréable. Nous avons pu arroser plusieurs jours de suite, des plaques de gypse au salicylate avec de l'urine sans que rien de semblable ne se soit produit, le gypse restait sans odeur. Nous employons depuis ce procédé pour tous nos appareils plâtrés.

Pour en revenir à l'acide naphtol-carbonique nous croyons que c'est dans les matériaux de remplissage, entre les planchers qu'il trouvera le mieux son emploi ; une addition de 3 à 4 p. 100 de cette substance en poudre fine au sable, au coke dont on se sert à cet effet, garantirait ces matériaux de toute infection. Cette précaution aurait en outre l'avantage de garantir contre l'invasion des souris, des insectes, des moisissures et autres parasites.

S'il s'agit de rendre antiseptiques des papiers de tentures, des draperies, des tapisseries, la première condition sera de se servir d'une substance qui n'altère pas trop les couleurs employées. Des essais faits sur un certain nombre de couleurs les plus usitées pour le badigeonnage des murs et la fabrication des papiers peints nous ont démontré l'impossibilité d'utiliser l'acide salicylique dans ce but.

Le salicylate de zinc par contre n'ayant pas d'influence sur un grand nombre de couleurs nous nous sommes servis d'une solution à 4 p. 100 de ce sel pour imprégner des papiers peints. Ces papiers ainsi préparés, fixés avec de la colle antiseptique sur des cartons imprégnés de la même solution furent éclaboussés avec des cultures de microbes, des crachats de tuberculeux, avec de l'urine en décomposition, etc., après quelques jours la surface des papiers ayant été essuyée avec de la ouate stérilisée à la chaleur, de petits lambeaux de ce papier furent inoculés sur du bouillon ou de la décoction de levure de bière glycérinée et ces liquides maintenus 15 à 20 jours au thermostat. Les résultats furent négatifs, les liquides restèrent stériles.

Des essais pratiqués sur une centaine d'échantillons de tissus de laine, de jute et de coton de toutes nuances nous ont prouvé qu'on peut imprégner la plupart des étoffes sans trop de préjudices pour les couleurs.

L'acide naphtol-carbonique ne peut guère être employé que pour les couleurs à la détrempe avec lesquelles on peut le mélanger dans une proportion de 3 ou 4 p. 100 par exemple.

Une question des plus importantes dans la pratique est celle des frais occasionnés par l'application de ces procédés; nous croyons utile d'en donner une idée approximative. Le kilog. de naphtol-carbonique revient aujourd'hui à 6 fr., le salicylate de zinc coûterait environ 7 fr. 50 le kil. Pour stériliser environ 30 quintaux métriques de gypse nécessaires à une construction de dimension moyenne, 60 kilos de naphtol-carbonique seraient nécessaires ou bien 1.800 litres d'une solution au 4 p. 100 de salicylate soit 72 kilos de ce sel. L'imprégnation des planchers, des boiseries et des charpentes nécessiterait environ 10 hectolitres d'une solution à 4 p. 100 par exemple, soit 40 kilos.

Enfin pour le remplissage des planchers il faut compter 50 kilos de naphtol-carbone.

L'imprégnation des papiers et tentures n'entre pas en ligne de compte.

D'après ces chiffres on voit que le total des frais occasionnés par ces opérations, la main d'œuvre comprise, s'élèverait à 800 ou 900 francs, environ à tout au plus 2 p. 100 du coût total de la construction. Cette augmentation minime de dépenses serait, croyons-nous, bien compensée par les avantages qui en résulteraient au point de vue de la santé, et par le fait que les murs, les planchers, les charpentes seraient ainsi garantis contre les moisissures, les champignons et contre les parasites animaux de toutes espèces.

C'est surtout dans les casernes, les hospices et les hôpitaux, où les chances d'infections sont si grandes, qu'on pourrait tirer de ce procédé de grands avantages. Enfin l'imprégnation des planches, des parois et des plafonds avec une solution saturée de salicylate de zinc pourrait aussi rendre des services pour l'assainissement des habitations en temps d'épidémies et pour la désinfection des hôpitaux en campagne.

Nous n'avons nullement la prétention d'avoir fait un travail complet et sommes si loin de croire que ces substances sont les seules qui puissent être employées pour les matériaux de construction que nous continuons nos essais avec d'autres antiseptiques ; nous avons simplement voulu appeler l'attention sur la nécessité pour l'hygiène moderne de faire quelque chose dans ce sens et démontrer la possibilité d'arriver à un résultat ; nous serons donc heureux de voir nos recherches reprises et complétées par celles d'autres expérimentateurs. Il est possible que certains des procédés recommandés ici rencontrant quelques difficultés dans leur application pratique doivent être modifiés. M. Davinet, architecte à Berne, a bien voulu se charger de faire d'après nos indications des essais dans ses nouvelles constructions, nous aurons ainsi bientôt l'occasion de constater directement si ces procédés sont praticables en grand et jusqu'à quel point les résultats concordent avec les expériences de laboratoire.

Des cultures de microbes immergées avec des solutions de ce sel à 1 °/₀₀, 5 °/₀₀, 1 °/₀ et 5 °/₀ sont réinoculées après 10, 30, 60 minutes et 24 heures sur des bouillons, de la décoction glycérinée de levure de bière et de la gélatine liquéfiée.

SOLUTION de salicylate de zinc employée	MICROBES	RÉSULTATS DES INOCULATIONS PRATIQUÉES APRÈS			
		10 MINUTES d'immersion	30 MINUTES d'immersion	1 HEURE d'immersion	24 HEURES d'immersion
1 °/₀₀	Bacilles et microc. de l'urine.	après 3 jours, trouble, dépôt, au microsc. bac. et cocc.	trouble, dépôt, bacilles et cocc.	trouble, dépôt, bacilles et cocc.	liquide clair sans dépôt, au microscope rien à constater.
	Bacillus cyanogenus, du lait bleu avec spores.	5 jours apr. culture. 12 jours après coloration, au microscope petits bacilles	culture, coloration, petits bacilles.	culture, coloration, petits bacilles.	5 jours apr. léger trouble, 15 jours après légère colorat., bacilles en moins gr. nombre.
	Bacill. pyocyaneus, pus bleu.	pellicule, fluorescence, bacilles.	pellicule, fluorescence, bacilles.	résultat retardé d'un jour, fluorescence faible, bacilles.	retardé de 2-3 jours, fluorescence faible, bacilles moins nomb.
5 °/₀₀	Bacilles et micrococ. de l'urine.	dépôt, bacilles et cocc.	trouble, léger dépôt, quelq. bacilles et c.	légèrem. trouble, pas de dépôt, pas d'organisme.	clair, pas de dépôt, au microscope rien.
	Bacillus cyanogenus avec spores.	culture, coloration, bacilles.	clair, au microsc., 1-2 bacilles dans le champ du microscope.	clair, au microscope rien.	clair, au microscope rien.
	Bacill. pyocyaneus.	pellicule, coloration, bacilles.	dével. retardé, bacill. en moins gr. nombre.	dévelop. retardé de 4 à 5 jours, peu de bacilles	clair, pas de pellicule, au microscope rien.
1 °/₀	Bacilles et micrococ. de l'urine.	clair, rien.	clair, rien.	clair, rien.	clair, rien.
	Bacillus cyanogenus avec spores.	culture, coloration, bacilles.	clair, au microscope, 1 à 2 bacilles dans le champ visuel.	clair, bacilles rares.	clair, au microscope rien.
	Bacill. pyocyaneus.	culture, coloration, bacilles.	culture, coloration, bacilles.	culture, coloration légère, bacilles rares.	clair, au microsc. rien, pas de coloration.
5 °/₀	Bacilles et micrococ. de l'urine.	clair, au microscope rien.	clair, au microscope rien.	clair, au microscope rien.	clair, au microscope rien.
	Bacillus cyanogenus avec spores.	clair, rien.	clair, rien.	clair, rien.	clair, rien.
	Bacill. pyocyaneus.	clair, rien.	clair, rien.	clair, rien.	clair, rien.

INFLUENCE DU SALICYLATE DE ZINC SUR LA PUTRÉFACTION

20 grammes de rate hachée plongée dans 200 grammes de solution, abandonnés à l'air dans ballons non bouchés.

Solutions employées	Résultats	Résultats des réinoculations
Salicylate de zinc 1 °/₀₀ Rate fraîche.	La putréfaction et l'odeur se déclarent 3 jours plus tard que dans le ballon contenant de la rate avec de l'eau ordinaire, au microscope des micrococcus et des bacilles.	Réinoculé sur gélatine et bouillons donne cultures de bacilles et de micrococcus.
Salicylate de zinc 5 °/₀₀ Rate fraîche.	Putréfaction retardée de 5-6 jours, odeur très faible, bacilles et micrococcus en nombre peu considérable.	Cultures de petits bacilles courts dont peu sont mobiles.
Salicylate de zinc 1 °/₀ Rate fraîche.	Pas d'odeur, pas de microbes.	Ne donne de cultures ni sur gélatine ni sur bouillon.
Salicylate de zinc 5 °/₀ Rate fraîche.	Pas d'odeur, pas de microbes.	Pas de résultats.
Salicylate de zinc 1 °/₀₀ Rate de 8 jours en putréfaction.	L'odeur se maintient, il se forme une pellicule sur le liquide, le liquide est d'un brun sale, au microscope : bacilles courts, micrococc. en chapelets et filaments.	Donne cultures mélangées sur gélatines et sur bouillons.
Salicylate de zinc 5 °/₀₀ Rate de 8 jours en putréfaction.	Pas de pellicule à la surface, peu d'odeur, le liquide a une couleur moins brune, peu de microbes.	Donne cultures sur gélatine et sur bouillon.
Salicylate de zinc 1 °/₀ Rate de 8 jours en putréfraction.	Pas de pellicule, pas d'odeur, au microscope quelques restes de microbes inertes.	Les réinoculations ne donnent pas de résultat après 10 jours au thermostat.
Salicylate de zinc 5 °/₀ Rate de 8 jours en putréfaction.	Pas de pellicule, pas d'odeur, le liquide est clair, au microscope rien, quelques restes de bacilles désagrégés.	Pas de résultats après 10 jours de thermostat.

DE LA TENEUR DU LAIT EN BACTÉRIES

PAR

Ed. de FREUDENREICH

Depuis que la mode est aux analyses bactériologiques, il y a peu de substances dont on n'ait scruté la teneur en germes au moyen des méthodes récentes de la micrographie. Les substances alimentaires surtout, en raison de la place importante que leur assigne l'hygiène, ont attiré l'attention des expérimentateurs. C'est ainsi que nous possédons déjà, par exemple une volumineuse littérature sur l'eau et ses microbes. Ces recherches statistiques sont certainement utiles dans ce sens qu'elles constituent un précieux recueil de faits dont l'hygiéniste pourra tirer plus tard un certain nombre de lois générales ; il faut se garder, toutefois, d'accorder aux chiffres une valeur absolue et d'oublier que la qualité des germes est bien plus importante encore que leur quantité. Juger une eau uniquement d'après sa teneur en germes, la déclarer bonne par exemple quand elle ne contient que quelques centaines de microbes par centimètre cube ou détestable quand elle en renferme un nombre élevé, exposerait souvent à de graves erreurs. C'est un point sur lequel M. Duclaux, dans une récente revue des travaux sur les microbes des eaux (1), a insisté avec raison. Comme il le dit une eau est pure quand elle est pure, c'est-à-dire quand elle ne contient pas de germes du tout et si l'on fait des numérations dans les laboratoires ce n'est point pour faire des fétiches des chiffres trouvés, mais pour y recueillir des faits et y puiser des idées.

Ce que nous venons de dire des recherches statistiques

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 559.

sur l'eau s'applique également à l'étude du lait et de ses microbes, aussi loin de nous la pensée, en citant les chiffres qui suivront, de déclarer un lait mauvais parce qu'il contient tel ou tel chiffre de microbes. Nous avons simplement voulu constater quelle est sa teneur habituelle en germes et rechercher avec quelle rapidité ces germes s'accroissent à diverses températures. Les micrographes si souvent chargés de l'examen bactériologique du lait, trouveront dans les résultats de nos expériences non pas un critérium de la bonne ou de la mauvaise qualité d'un lait, mais du moins quelques indications qui leur permettront de se prononcer d'une façon plus ou moins approximative sur son âge ou sur la façon probable dont il a été traité. Bien que diverses bactéries jouant un rôle considérable dans les maladies du lait aient déjà été étudiées, il ne semble pas qu'on ait fait, jusqu'ici, beaucoup de recherches quantitatives sur les germes qu'il peut héberger. Ce n'est que pendant la rédaction de la présente note, que nous avons eu connaissance par un résumé qu'en a donné le *Centralblatt für Bakteriologie und Parasiten-Kunde* (1) d'une communication faite à ce sujet au Congrès des naturalistes allemands tenu récemment à Heidelberg, par M. Cnopf, de Munich. Nous aurons l'occasion d'en reparler plus loin.

Le lait soumis à nos expériences provenait d'une ferme très proprement tenue. Il était trait comme cela se fait habituellement dans des sceaux, d'où il était versé dans un récipient de fer blanc après avoir été filtré sur un bouchon de paille pour le débarrasser des poils et autres impuretés qui avaient pu le souiller pendant la traite. C'est dans ce lait que nous puisions dans des bouteilles propres mais non stérilisées, la quantité de lait nécessaire à nos expériences. Les bouteilles n'étaient intentionnellement pas stérilisées pour se rapprocher le plus possible des conditions dans lesquelles cet aliment parvient au consommateur. Dans une expérience une première numération des germes eut lieu de suite après la traite, dans les autres, on attendait deux à cinq heures pour la faire, le lait étant

(1) VI, p. 553..

tenu pendant ce temps à l'air, à une température variant à l'époque de nos expériences, entre 2-8 degrés; il est rare en effet que le lait soit livré au consommateur plus tôt. Pour compter les germes nous avons eu recours au procédé habituel des plaques de gélatine. Le lait pur ou convenablement dilué dans de l'eau stérilisée était introduit à la dose d'une ou quelques gouttes dans des tubes de gélatine liquéfiée, avec laquelle on faisait les plaques. Après une première numération le lait était tenu en partie à la température de la chambre (15°), en partie à des températures plus élevées (25° et 35°) et toutes les deux ou trois heures on procédait à une nouvelle numération.

Nous faisons suivre ici les tableaux résumant ces expériences.

I

Lait trait le 28 *octobre* 1889, *à* 6 *heures du matin.*

	Nombre de bactéries par cmc.
A l'arrivée au laboratoire (2heures après la traite)	9 000
1 heure plus tard, à la température de 15°	31 750
2 heures » »	36 250
3 » » »	35 000
4 » » »	40 000
7 » » »	60 000
8 » » »	67 000
9 » » »	120 000
25 » » »	5 600 000

Un autre échantillon dont on avait négligé de fixer la teneur initiale en microbes, fut tenu à 35°. Voici les chiffres indiquant l'accroissement des germes :

Au bout d'une heure :	9 500	bactéries par cmc.
» de 2 heures :	11 000	»
» 3 :	13 500	»
» 4 :	30 000	»
» 7 :	93 000	»
» 8 :	230 000	»
» 9 :	251 000	»
» 25 :	63 500 000	»

II

Lait trait le 8 *novembre* 1889, *à* 6 *heures du matin.*

Nombre de germes par cmc.

A l'arrivée au laboratoire, 2 heures après la traite 23 000

	à 15°	à 25°	à 35°
2 heures plus tard	50 000	plaque liquéfiée	75 000
4 » »	15 500	»	105 000
6 » »	21 500	860 000	2 700 800
9 » »	35 000	2 150 000	3 400 000
24 » »	3 000 000	806 000 000	812 500 000

III

Lait trait le 14 *novembre* 1889, *à* 6 *heures du matin.*

Nombre de germes par cmc.

A l'arrivée au laboratoire, 2 h. 1/2 après la traite 9 300

	à 15°	à 25°	à 35
3 heures plus tard	10 000	18 000	30 000
6 » »	25 000	172 000	12 000 000
9 » »	46 500	1 000 000	35 280 000
24 » »	5 700 000	577 500 000	50 000 000

IV

Dans cette expérience le lait fut trait le soir et abandonné pendant la nuit à différentes températures.

Nombre de germes par cmc.

De suite après la traite 19 320

	à 15°	à 25°	à 35°
le lendemain, après 15 h.	1 000 000	72 187 600	165 500 000
» » 18	800 000	»	166 000 000
» » 21	6 063 500	200 000 000	180 000 000

Une première chose à noter ici est le nombre relativement considérable de germes que le lait contient de suite ou très peu de temps après la traite, de 10-20 000 par cmc. Les nombreuses manipulations que le lait subit dans des vases non stérilisés et les chances variées d'infection auxquelles il est exposé pendant la traite (poils, germes de l'air, etc.)

expliquent facilement comment ce liquide, absolument pur de germes à l'origine, s'infecte dans une mesure si notable.

Dans ses expériences, M. Cnopf a généralement obtenu des chiffres encore plus élevés que nous, 60 -100 000 germes par cmc de suite après la traite. Ces divergences peuvent tenir aux conditions différentes dans lesquelles sont placés les expérimentateurs.

L'accroissement ultérieur de ces germes dépend ensuite, on le voit, surtout de la température à laquelle est exposé le lait. A 15° cet accroissement est relativement faible pendant les premières heures qui suivent la traite. En 5 à 6 heures le nombre initial des bactéries peut avoir environ triplé ou quadruplé. Au bout de 9 heures le nombre des bactéries n'est monté, dans nos expériences, qu'une seule fois jusqu'à, 120 000 par cmc. Mais dans la suite, l'augmentation progresse rapidement. Au bout de 15 heures, on peut en trouver un million par cmc et, après 24 heures, au moins quelques millions. A ce moment cependant, le lait n'est pas encore modifié macroscopiquement et ne présente pas de trace de coagulation. Si M. Cnopf a constaté, dans ses expériences, que le lait, tel qu'il arrive en mains au consommateur, c'est-à-dire 5 à 6 heures après la traite, contient de 20 0000 à 6 000 000 de germes par cmc, cela doit provenir, pensons-nous, soit de ce que le lait était, dès l'origine, plus impur, soit de ce que ses expériences ont été faites dans une saison où la température dépassait 15°.

On voit, en effet, qu'à 25°, la multiplication des germes est déjà plus rapide. Cependant, elle n'est pas encore très considérable au bout de 3 heures, mais dans les heures suivantes, elle s'accuse toujours plus, de façon à dépasser un million environ après 8 à 9 heures, pour arriver en 24 heures, à des centaines de millions par centimètres cubes. A 35°, l'augmentation est naturellement encore plus activée, ainsi que l'on peut s'en convaincre par un coup d'œil jeté sur les tableaux. Il est clair, toutefois, que ces chiffres n'ont rien d'absolu, car selon les espèces bactériennes prédominant dans un lait, l'accroissement pourra être plus ou moins rapide.

Nous avons aussi recherché si l'acidification du lait marchait de pair avec l'accroissement des bactéries ; et à

notre demande, M. le Dr Schaffer, chimiste cantonal à Berne, a bien voulu se charger de déterminer, aux moments où se faisait la numération des germes, le degré d'acidité du lait d'après la méthode de Sohxlet-Henkel (1). Il résulte toutefois de ces déterminations que l'acidification est loin de marcher aussi régulièrement que l'accroissement des germes. Au début même, le lait semble généralement devenir plus alcalin, plus tard le degré d'acidité remonte un peu, oscille dans de faibles limites et s'accentue généralement à la fin de l'expérience, surtout quand le lait se caille. Il est alors souvent fortement acide. Une fois, cependant, le degré d'acidité n'avait que peu augmenté malgré la coagulation provoquée par les ferments lactiques. Les échantillons tenus à 15°, en particulier, se montrèrent même après 24 heures, moins acides qu'au début de l'expérience. Ces différences tiennent sans doute à la présence de telles ou telles espèces bactériennes; tant que les espèces vulgaires, qui n'ont pas d'action spécifique sur le lait, prédominent, et ceci est généralement le cas, pendant les premières heures, l'acidité ne fait pas de progrès. Quand, au contraire, les ferments lactiques font leur apparition et qu'ils ont eu le temps de se multiplier, ce qui a lieu surtout à partir de 25°, l'acidification fait des progrès. On voit alors les autres espèces devenir plus rares et même disparaître tout à fait. Ceci est généralement le cas pour le lait tenu pendant 24 heures à 25° et 35°. Dans celui conservé à 15°, les ferments lactiques proprement dits n'ont pas encore toujours conquis le terrain au bout de ce temps, et les plaques faites à ce moment offrent quelquefois encore une grande variété d'espèces. En général, la variété des espèces trouvées en dit plus long encore que le nombre total des bactéries sur l'âge probable du lait. En effet, tant que l'on rencontre les espèces les plus diverses, colonies liquéfiantes de bacilles, et de micrococcus, colonies chromogènes et colonies ne liquéfiant pas la gélatine, on peut avec quelque raison admettre que lait n'est pas très vieux

(1) D'après ce procédé on ajoute à 50 cmc de lait 2 cmc d'une solution alcoolique de phénolphtaleïne et l'on titre avec la solution de soude caustique normale au quart.

ou que du moins il n'a pas subi l'action d'une température trop élevée. Obtient-on, au contraire, des plaques très homogènes, avec prédominance d'une seule espèce, il y a lieu d'admettre que, soit en raison de l'âge du lait, soit en raison de la température à laquelle il a été exposé, les ferments spéciaux du lait ont eu le temps d'y pulluler et d'en chasser les germes qui y existaient au début. Toutes ces questions demanderont, du reste, à être reprises à nouveau quand l'étude de chacun des ferments parliculiers du lait aura été abordée.

ÉTUDE SUR LA FERMENTATION AMMONIACALE

ET SUR LES FERMENTS DE L'URÉE (*suite*)

Par le Dr P. MIQUEL

---

§ III. — Description des espèces

Urobacillus Duclauxii *sive* Bacillus ureæ β

Mécanisme de la fermentation de l'urée par l'Urobacillus Duclauxii. — J'ai déjà dit que cette espèce était remarquable par l'énergie de l'acte fermentatif qu'elle pouvait produire, eu égard à son faible développement botanique. Inoculée au fil de platine dans du bouillon peptonisé chargé de 20 p. 1.000 d'urée maintenue à 40°. Dès le lendemain, l'urée a disparu et le liquide n'a pas sensiblement perdu de sa limpidité ; il s'est cependant troublé, surtout sous l'influence d'une réaction chimique déjà signalée, mais ce précipité a pu au bout de quelques heures gagner le fond du vase ou se déposer partiellement sur sa paroi verticale, ce précipité d'ailleurs très peu abondant et semi-cristallisé adhère fortement au verre qu'il dépolit simplement, et il faut une vive agitation pour l'en détacher. Quant à l'organisme ferment, on doit se servir du microscope pour ce découvrir. Dans les liquides où ce précipité ne se produit pas sous l'influence du carbonate d'ammoniaque, on hésite longtemps pour reconnaître *de visu* si la liqueur a ou non fermenté, le plus souvent l'odorat est le sens auquel il faut s'adresser pour trancher rapidement la question.

En pesant avec soin les cellules en bâtonnets relativement rares, perdues dans les dépôts, on trouve que leur poids

est environ à l'urée comme 1 est à 4.000 (1), autrement dit un acte végétatif, se traduisant par la formation de 1 kilogr. de cellules, suffit pour déterminer la conversion de 4 tonnes d'urée pure en carbonate d'ammonium. Ce rapport devient encore plus faible lorsqu'on opère sur des liquides très fortement chargés d'urée. Dans une expérience effectuée avec 850 cmc de bouillon titrant 100 gr. d'urée par litre, le poids des cellules s'est élevé à 1 : 5.777 de la carbamide hydratée (2).

Quand on diminue le poids de la substance nutritive des urines artificielles contenant 20 grammes de peptone par litre, et qu'on le porte à 2 p. 1.000, la fermentation avec l'*Urobacillus Duclauxii* est encore rapide et complète pour 20 grammes d'urée dissous dans 1.000 cmc de véhicule ; mais aucun trouble ni aucun précipité n'est visible dans la liqueur fermentée, c'est à peine si l'on obtient quelques milligrammes de cellules pour 2 à 3 litres

---

(1) *Première expérience.* — Fermentation de 2 litres de bouillon chargé de 20 gr. d'urée par litre.

Filtre + 0 gr. 713 = tare 1 gramme. Après filtration du bouillon totalement fermenté.

Filtre + 0 gr. 702 = tare 1 gramme.

Différence 0 gr. 011, rapport = $\frac{40.000}{11} = 3.636$.

Deuxième expérience. — Fermentation de 2 litres de bouillon chargé de 20 gr. d'urée par litre.

Filtre + 0 gr. 742 = tare 1 gramme. Après filtration du bouillon totalement fermenté.

Filtre + 0 gr. 733 = tare 1 gramme.

Différence = 0 gr. 009, rapport = $\frac{40.000}{9} = 4.444$.

Troisième expérience. — Fermentation de 3 litres de bouillon chargé de 20 gr. d'urée par litre.

Filtre + 0 gr. 721 = tare 1 gramme. Après filtration du bouillon complètement fermenté.

Filtre + 0 gr. 7065 = tare 1 gramme.

Différence = 0 gr. 0145, rapport = $\frac{60.000}{145} = 4.138$.

Moyenne des trois rapports précédents = 4.070.

(2) *Expérience unique.* — Fermentation de 850 cmc. de bouillon chargé de 100 grammes d'urée par litre.

Filtre + 0 gr. 744 = 1 gramme. Après la filtration du bouillon appauvri de 78 grammes d'urée par litre :

Filtre + 0 gr. 7325 = tare 1 gramme. Différence = 0 gr, 0115.

Différence pour 1 litre = 0 gr. 0135, rapport = $\frac{78.000}{13.5} = 5.776$.

d'une semblable liqueur. Ce qui démontre certainement que dans les conditions étudiées jusqu'ici, c'est-à-dire qu'avec les bouillons nutritifiés à 2 p. 100, on provoque, une supernutrition de l'organisme, bien superflue si on considère le travail biochimique qu'on réclame de lui. D'ailleurs, cette supernutrition se manifeste par la production d'un excès d'urase, facile à mettre en évidence, en tuant le bacille, et en faisant agir le liquide qui le nourrit sur une solution d'urée pure ; après la mort de l'espèce adulte, l'hydratation se poursuit jusqu'à l'épuisement de la diastase.

Déjà dans les expériences précédentes, les pesées obtenues sont vraisemblablement entachées des erreurs inhérentes aux dosage effectués sur de trop faibles quantités de substances ; à plus forte raison l'on doit se défier de celles que pourrait fournir la balance requise pour déterminer le poids total des cellules d'un microbe répandu en très faible quantité dans 5 à 6 litres d'un liquide appelé à traverser un filtre d'un poids inférieur à 1 gramme. Dans ce cas, l'augmentation de quelques milligrammes, ne saurait donner aucune certitude en admettant même que les bacilles fussent incapables de traverser les pores du papier. C'est pour ce motif que je ne publierai pas les pesées obtenues avec des liquides minéraux réduits à leur minimum de nutritivité, mais encore capables de favoriser l'hydratation complète de 20 grammes d'urée.

Quoiqu'il en soit, les chiffres qu'on a lu plus haut établissent qu'il existe une disproportion considérable entre l'acte de nutrition du ferment et la quantité d'urée hydratée sous son influence. Ici, cette disproportion atteint une limite extrême, telle qu'il n'en n'existe pas d'exemple dans les phénomènes aujourd'hui étudiés, se rapportant à l'action des microphytes sur les substances chimiques. On sait, il est vrai que les diastases *brutes* peuvent transformer plusieurs milliers de fois de leur poids de matières fermentescibles, mais le rapport entre la quantité de la substance transformée et le poids des cellules du microorganisme agent de cette transformation était loin de se rapprocher des rapports qui viennent d'être donnés. On peut donc se demander sans courir le risque de s'éloigner de la vérité, si la quan-

tité de diastase secrétée par les urobacilles ne dépasse pas de beaucoup le poids total des bâtonnets qui la secrètent.

Nous entrons ici dans le cœur même du sujet qui préoccupe le plus vivement l'esprit des zymotechnologues, par conséquent le plus intéressant qui puisse être abordé sur les fermentations, le seul d'ailleurs qui soit capable de soulever le voile qui cache le mécanisme par le fonctionnement duquel un acte de nutrition simple, souvent infime en lui-même, se traduit par la production de substances chimiques nettement définies. Une théorie des fermentations qui considérerait ces dernières substances comme les résidus uniques d'une dislocation de la substance alimentaire ou fermentative me paraîtrait découler de l'examen trop superficiel de ces phénomènes. Sans doute, au premier abord on distingue une cellule qui se nourrit, puis à mesure qu'elle se multiplie on constate que l'intervertion du sucre, la production de l'alcool, l'hydradation de l'urée, etc... augmentent, s'exagèrent et paraissent intimement liées à l'acte végétatif ; c'est en effet une des gloires de M. Pasteur d'avoir établi ce premier fait si important, contraire aux vues du savant allemand Liebig ; mais entre l'acte végétatif et l'acte chimique, concomitant dans les conditions ordinaires, n'existe-t-il pas des phénomènes intermédiaires qui, sous la dépendance immédiate de l'acte végétatif vont ensuite indépendamment de lui produire l'acte chimique ? Quant à moi, je partage entièrement cette opinion depuis que j'ai pu obtenir, en cultivant divers agents des fermentations dans des bouillons variés, des liquides d'une altérabilité extrême qui en dehors de la nutrition proprement dite des espèces, produisent des effets d'une énergie singulière. Plusieurs de ces liquides sont d'une instabilité telle qu'ils perdent toute leur vertu peu de temps après la mort du microorganisme dont ils procèdent, mais je ne veux pas aborder aujourd'hui les questions importantes qui se rattachent à plusieurs fermentations bien connues notamment à la biogenèse de l'alcool et sur lesquelles je ne tarderai pas à revenir.

L'urase qui doit m'occuper plus particulièrement en ce moment se présente à nous comme une des diastases d'altérabilité intermédiaire entre les diastases résistant longtemps aux agents physiques, et celles qui ne peuvent subir

longtemps leur funeste influence. Dans les fermentations ammoniacales produites par des espèces peu énergiques, l'urase n'existe jamais en excès après la fermentation ; dans les cultures effectuées en dehors de l'urée si le *ferment figuré est peu actif*, elle est détruite par les agents physiques naturels *au fur et à mesure de sa sécrétion*. C'est ce qui explique pourquoi l'urase a pu dès l'abord m'échapper dans le cours de mes travaux sur la fermentation ammoniacale et passer inaperçue à M. Leube qui s'est aussi occupé de l'isoler. L'étude de ces phénomènes ne me paraît devoir être fructueuse que lorsqu'on aura perfectionné les procédés qui permettent de produire et de conserver les diastases; les unes s'accommodent presque des milieux acides, tandis que d'autres sont détruites, insolubilisées par des traces d'acide minéral ; quelques-unes demandent des milieux neutres, la plupart, des milieux alcalins ; plusieurs d'entre elles résistent avec assez d'énergie à l'oxygène atmosphérique, à d'autres il faut des atmosphères mitigées par l'acide carbonique, l'azote ou le vide. L'absence de la lumière et surtout un degré de chaleur dont la détermination présente de grandes difficultés à l'expérimentateur, sont les conditions d'une bonne réussite. Quant aux modes d'extraction des diastases actuellement préconisés (alcool, précipitations, etc...) ils seront, je le crois, sévèrement jugés par nos successeurs qui les compareront non sans raison aux efforts infructueux que ferait un chimiste pour étudier le phosphure d'hydrogène spontanément inflammable au contact de l'air, ou encore le *Zinc-éthyle* et la *liqueur fumante de Libavius* ou *de Cadet* au contact de l'eau. Le point sur lequel on doit actuellement diriger avec le plus de constance les efforts est celui qui a rapport à l'obtention des diastases, à l'étude de leurs propriétés, à la façon de les accumuler dans les cultures, car je n'ose pas espérer qu'il soit possible de les conserver avec leur vitalité propre en les amenant à l'état solide, alors que plusieurs d'entre elles engendrées sans relâche par les microorganismes, ont de la peine à vivre quelques heures ou quelques jours en dehors du liquide où elles se répandent dès l'instant où les cellules vivantes les secrètent.

De même que l'*Urobacillus Pasteurii*, l'*Urobacillus*

Duclauxii fournit abondamment du ferment soluble, moins cependant que la première espèce urophage. Arrive-t-on à le cultiver dans un milieu approprié et dans des conditions très favorables à la formation du ferment, on obtient des solutions diastasiques d'une activité surprenante. En 10 et 15 minutes de temps, on provoque la conversion d'une quantité d'urée qui exige plusieurs jours dans les conditions ordinaires d'une bonne fermentation; ce temps, je crois qu'on ne doit pas désespérer de l'abréger encore et d'arriver à produire avec l'urase une fermentation, le mot est ici bien impropre, je préfère dire une hydratation instantanée. Mais de quels soins ne doit-on pas entourer ces sortes de cultures? la forme du vase, une agitation trop répétée, un degré de chaleur ou de froid trop soutenu, l'ascension même de la solution de diastase, de la température favorable à sa secrétion, au degré de chaleur que réclame son optimum d'action, une trace d'acide libre, quelques millionièmes d'argent ou de mercure, tout cela altère et amoindrit son activité; il semblerait en vérité qu'on se trouve en présence du protoplasma vivant lui-même avec cette différence qu'il se trouve dissous dans les cultures sans la protection évidemment très efficace que lui constitue la paroi cellulaire. Que penser alors, je le répète, de la précipitation de l'urase par l'alcool, les sels de plomb, etc... en un mot, par tous les moyens qui insolubilisent passagèrement certaines substances albuminoïdes; l'urase ne résiste pas à ces opérations brutales ou du moins elle est détruite dans des proportions telles que tout examen basé sur l'énergie hydratante du produit brut redissous ne saurait donner une idée de la puissance ou du travail que peut accomplir la diastase fraîche.

J'ai calculé qu'en cultures dans le bouillon peptonisé, a 20 p. 1.000, l'*Urobacillus Duclauxii* qui est loin, on le sait, d'être le ferment le plus énergique, fournit assez d'urase pendant 40 jours pour hydrater 2.500 gr. environ d'urée pure; au bout de 6 mois, la production journalière de cette diastase devient très faible, mais elle est encore sensible; j'estime finalement qu'avec 20 gr. de peptone, servi en nourriture à l'espèce, on peut développer une secrétion physiologique capable d'hydrater 5 kilogr. d'urée. Le rapport

entre l'aliment azoté et le poids de la carbamide détruite paraît voisin de 1 : 250; on ne confondra pas ce rapport avec ceux qui ont déjà été donnés qui expriment uniquement les relations entre le poids des cellules formées et l'urée convertie en carbonate d'ammoniaque, dans une courte expérience.

Une des difficultés dans ces sortes de recherches est de trouver une méthode permettant de doser convenablement le ferment soluble; étant donné qu'une culture peut renfermer beaucoup de diastase inactive ou morte, et une autre peu de diastase vivante mais pourvue d'une action énergique. Il s'agit de calculer, je ne dirais pas, le poids exact (on ne connaîtra peut-être jamais le poids réel d'une diastase à l'état de pureté), mais les quantités relatives d'un même ferment soluble tenu en solution dans deux cultures.

Quel procédé employer? Celui qui vient naturellement à l'esprit consiste à doser ce corps non pas à la balance, mais d'après sa puissance d'action sur la substance chimique. En représentant par exemple par δ la quantité d'urase capable de transformer 1 gramme d'urée dans une solution d'eau distillée chargée de 20 grammes de carbamide par litre, à une température donnée et dans des conditions parfaitement identiques, il semblerait rationnel qu'une culture cotant 5 δ dût être considérée comme 2 fois plus riche en urase qu'une seconde accusant une énergie 10 δ. Ces vues théoriques ne paraissent pas résister à un mûr examen, et si on peut utilement appliquer des unités arbitraires à des agents physiques tels que le calorique, le magnétisme, l'électricité, c'est par la raison que ces agents sont identiques à eux-mêmes, et qu'on peut facilement réaliser les conditions où ils sont fructueusement comparables. En est-il de même pour les diastases, pour ces substances albuminoïdes vivantes ou demi-vivantes qui vieillissent d'heure en heure, dont l'énergie remarquable à l'état naissant va en s'affaiblissant et dont la vitalité et la puissance d'action varient avec l'espèce des cellules dont elles procèdent? Il est facile de démontrer que des diastases d'une même origine ne présentent pas une action exactement proportionnelle à leur quantité quand on les fait agir durant le même espace de temps et dans des con-

ditions semblables. Dans des temps inégaux, toute chose restant égale d'ailleurs, la solution la moins riche en diastase donne des résultats comparativement les plus faibles parce qu'elle a à subir plus longtemps l'action des causes qui la détruisent.

Le problème, comme on voit, devient très complexe en raison de la nature de l'énergie à mesurer, tout fait présumer que cette énergie est une sorte de force vitale qui va réclamer des physiologistes avec l'emploi de nouvelles unités, la création de procédés d'investigation nouveaux, en marchant dans cette voie, je suis convaincu qu'on fera un pas en avant dans le domaine de la biologie, beaucoup de faits encore inexpliqués seront vraisemblablement élucidés par ces études curieuses toutes profitables aux phénomènes encore obscurs qui président aux actes fermentaires.

S'il est malaisé de comparer entre elles deux solutions diastasiques d'origines différentes, les échantillons prélevés d'une même solution d'urase restent absolument comparables ainsi que l'expérience le démontre aisément; placés dans des conditions identiques et soumis à des forces de même intensité, ils expriment toujours le même résultat final. Le mot *identique* doit être pris ici dans le sens le plus rigoureux : la dilution des liquides, la forme des vases (accès de l'air), la pression, l'intensité lumineuse, etc., et la liqueur normale d'essai (solution d'urée) doivent posséder les mêmes qualités. Je ne crois pas qu'on doive regretter cette extrême sensibilité de l'urase; au contraire, c'est avec des diastases d'une sensibilité analogue qu'on arrivera à découvrir les faits que ne sauraient mettre au jour les ferments solubles doués d'une moindre altérabilité, et à pressentir ceux que doivent posséder les diastases dont l'extrême fugacité en rend la manipulation trop laborieuse ou actuellement impossible.

La solution diastasique obtenue, il devient un jeu d'étudier les modifications que peuvent lui faire éprouver la lumière, la chaleur, l'électricité, les vibrations sonores, les basses et hautes pressions, le contact des gaz, des liquides, des corps solides, solubles ou non, des bases, des acides, des sels, et les métaux eux-mêmes ; il suffit pour cela de préparer avec soin plusieurs vases témoins et de com-

parer les résultats qu'ils fournissent avec ceux que donnent les liquides qu'on soumet simultanément pendant le même temps à un agent d'une nature et d'une force déterminées. Je quitte à regret ce sujet attachant à tant de titres avec l'espoir d'y revenir un peu plus bas après la description des espèces urophages.

Comme son congénère l'*Urobacillus Pasteurii*, le microbe qui nous occupe agit uniquement sur l'amide carbonique au moyen d'une diastase, cette diastase est plus lente à s'accumuler dans le bouillon alcalinisé simplement peptonisé, en tout cas on peut répéter avec l'*Urobacillus Duclauxii*, l'expérience citée antérieurement qui démontre que l'hydratation de l'urée est encore ici le fait d'un acte biochimique s'accomplissant en deux temps.

Cette preuve va nous être rendue de plus en plus difficile au fur et à mesure que nous étudierons des espèces de moins en moins urophages.

Morphologie de l'Urobacillus Duclauxii. — Ce bacille apparaît, comme je l'ai déjà dit, sous la forme de filaments dans les urines fermentées ; c'est surtout au sein des dépôts qu'il faut le rechercher, car il est souvent difficile de le trouver en suspension dans les liquides. Parfois cependant dans les urines peptonisées on le rencontre à la surface liquide dans une lame mince irisée qui s'aperçoit quand on place l'œil de façon à recevoir la lumière réfléchie par le plan supérieur de la culture. A l'examen microscopique ces pellicules sans consistance se montrent formées par des bacilles généralement plus courts que les filaments errants et semblent unis entre eux par une substance muqueuse formée peut-être par de l'urase oxydée. Le diamètre des bâtonnets calculés sur des préparations colorées au bleu de méthylène varie dans les urines de 0, 6 à 0, 8 μ ; leur longueur est très inconstante, elle atteint parfois 10 μ dans les cultures liquides, et descend à 2 et 3 μ dans les cultures sur gélatine. Cette espèce immobile dans ces derniers milieux se montre douée du mouvement propre des bacilles dans les liquides ; les articles courts sont surtout aperçus tourbillonnant dans les liqueurs, puis la mobilité disparaît à jamais quand les solutions sont fortement chargées de carbonate d'ammonium. Les chaînes

d'articles ou les filaments réunis le plus souvent en forme de Z, de L, de V, ne m'ont pas paru posséder les mouvements qu'on observe pendant la scissiparisation, du reste ce détail est de peu d'importance, et ne saurait fournir un caractère d'une valeur bien réelle. Notons seulement que l'*Urobacillus Duclauxii* ne présente pas la vélocité de quelques bacilles grêles vulgaires fort voisins d'aspect mais sans action sur l'urée.

Dans les cultures effectuées dans le bouillon alcalinisé, l'*Urobacillus* augmente notablement d'épaisseur, et peut atteindre facilement 0, 8 à 1 μ ; la longueur de ses articles se maintient dans les dimensions déjà indiquées et sa mobilité n'est pas sensiblement accrue.

Semés en grand nombre sur plaques de gélatine chargée d'urée la couche nutritive se remplit de cristaux, exhale du jour au lendemain une odeur ammoniacale très appréciable, le microscope muni d'un faible grossissement permet de distinguer des colonies légèrement jaunâtres qu'une amplification plus grande montre formées de bacilles à dimensions longitudinales très réduites, ce qui semble devoir être attribué au défaut d'aération et peut-être aussi à l'accumulation sur un seul point des substances secrétées. Ces colonies deviennent visibles à la loupe et même à l'œil nu, mais n'acquièrent jamais un très fort développement. Les semences voisines de la surface de la gélaline ou de la paroi inférieure de la plaque de verre croissent souvent en diamètre, fournissent des taches comparables au verre dépoli et acquièrent de 2 à 4 millimètres de rayon. Si les colonies sont en faible nombre dans la couche de gélatine, elles s'entourent d'un brouillard cristallin uniformément dégradé du centre à la périphérie, aspect d'ailleurs commun à tous les ferments énergiques de l'urée.

Quand la gélatine qui sert à former les plaques est neutre et non chargée de carbamide, l'ensemencement reste infécond ; cette remarque permet facilement de démontrer si l'espèce est mélangée à un microbe étranger. Dans le cas d'une contamination, on voit se former des colonies qui n'ont aucune parenté avec l'*Urobacillus Duclauxii*, mais conclure de là que ces colonies étrangères

sont dans un état de pureté absolue, ce serait s'exposer à d'étranges mécomptes. En effet, ces taches sont pour la plupart contaminées par le bacille-ferment et sur dix ensemencements pratiqués dans l'urine artificielle avec ces colonies, on obtient 10 cas de fermentation par l'urobacille. Ces fermentations sont dans la plupart des cas très retardées par suite de l'intrusion d'une espèce non urophage dans les urines, enfin ces résultats donnent la mesure de la certitude que comporte la méthode de séparation préconisée par le Dr R. Koch, même quand il s'agit d'un mélange d'espèces dont l'une est incapable de croître dans le milieu où on la sème, et l'autre d'y prendre au contraire un accroissement rapide.

L'*Urobacillus Duclauxii* n'offre aucun polymorphisme digne d'être rapporté. Semé dans des liquides fortement chargés d'urée il se montre toujours en articles assez longs, alors même que la teneur des urines artificielles en cette substance atteint 50 à 100 gr. par litre ; c'est à peine si les articles présentent plus de maigreur et offrent une tendance plus marquée à se résorber, ou bien à la manière ordinaire, l'article pâlit, l'indice de réfraction de son protoplasme devient égal à celui du liquide qu'il baigne ; ou bien et c'est là je crois le mode de formation des spores endogènes de ce microbe, le filament cylindrique semble s'effiler aux extrémités, prend l'aspect d'un fuseau, et le protoplasme se condense au centre du fuseau, qui brille assez nettement. S'il se forme deux spores dans le même bâtonnet ou dans des bâtonnets non encore scissiparisés, les spores restent unies entre elles pendant longtemps comme par la membrane cellulosique des bâtonnets.

La forte résistance de cette espèce à l'action de la chaleur rend l'existence de ces spores absolument certaines, aussi, malgré les difficultés que présente leur détermination au microscope, je pense qu'il faut voir dans ces fuseaux brillants quelque peu diffus à mes objectifs, la graine de l'espèce.

Ces semences sont très rarement trouvées dans les urines complètement fermentées ; c'est à leur absence qu'on doit attribuer les résultats négatifs qui se produisent dans les tentatives de cultures effectuées avec des urines un peu

âgées. Si on veut obtenir des semences en quantité notable, ou doit cultiver le microbe dans des liqueurs appelées à devenir très faiblement ammoniacales, peu chargées de substances nutritives et incomplètement placées à l'abri de l'oxygène. Il semble dans ces conditions défectueuses que l'espèce ait hâte de se perpétuer en produisant des spores.

(*A suivre.*)

REVUES ET ANALYSES[1]

MAUPAS. — **Le rajeunissement Karyogamique chez les Ciliés** (*Archives de zoologie expérimentale*, 2e série, t. VII, 1889, p. 149-517, pl. IX-XXIII.)

M. Maupas, reprenant les observations de ses prédécesseurs, sur la conjugaison des Ciliés, a étudié à ce point de vue un certain nombre d'espèces appartenant aux différents groupes de cette famille et est arrivé à établir un schéma typique de la conjugaison applicable à tous les Infusoires ciliés, dans ses grandes lignes tout au moins. Il distingue dans le phénomène 8 stades successifs qui représentent l'évolution du ou des micronucleus pendant la conjugaison et qui peuvent se résumer ainsi.

A Le micronucleus se sépare du nucleus et augmente de volume.
B, C Il se divise en deux puis en quatre. Deux des corpuscules sont éliminés par résorption (corpuscules de rebut).
D Le corpuscule persistant dans chaque individu se divise de nouveau pour donner un pronucleus mâle et un pronucleus femelle.
E Échange entre les conjoints de leur pronucleus mâle qui va se fusionner avec le pronucleus femelle de l'autre conjoint.
F, G Le noyau de copulation unique résultant de cette fusion se divise en deux puis en quatre.
H Les produits de cette division se différencient en macronucleus et en micronucleus.

Parmi ces stades, les six premiers sont constants chez toutes les espèces, le septième ou stade G subit parfois des modifications, il manque chez certaines formes et alors la division du pronucleus s'arrête au stade F; d'autres fois, au contraire il survient une troisième division des produits du noyau de copulation dont le nombre total est de 6 au lieu de 4 dans chaque conjoint. L'auteur exprime ce redoublement du stade G par les termes $\frac{G}{1}$ et $\frac{G}{2}$.

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales micrographiques* seront analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

Que devient le noyau ancien, le macronucleus pendant la conjugaison et l'évolution du micronucleus ? M. Maupas admet qu'il disparaît peu à peu, soit par résorption, soit par élimination. Selon lui les fragments ou le résidu unique du micronucleus ne joueraient aucun rôle dans la conjugaison et si parfois l'on voit — ainsi qu'il l'a constaté lui-même chez le *Par. caudatum* — l'un des produits du noyau de copulation se fusionner avec un fragment de l'ancien macronucleus, le phénomène est accidentel. L'essence même de la conjugaison serait donc un échange d'éléments micronucléaires qu'il appelle pronucleus mâles suivi d'une fusion de ces pronucleus mâles avec les pronucleus femelles.

Parmi les faits rapportés par M. Maupas, les uns avaient été vu dès 1858-1861 par M. Balbiani, puis repris et interprétés d'autre façon par Bütschli, Engelimann, Stein, Kölliker et enfin par M. Balbiani lui-même. D'autres faits et parmi ceux-ci un des plus importants, la fusion des pronucleus, sont nouveaux et n'avaient jamais été directement observés.

Le travail de M. Maupas renferme, en outre de l'histoire détaillée de la conjugaison chez nombre d'espèces, de nombreuses considérations générales sur lesquelles ils est bon de s'arrêter un instant.

Certaines observations faites sur le *Par. caudatum* et plusieurs autres formes tendant à faire supposer que les différentes heures de la journée auraient une influence sur la réunion des individus aptes à se conjuguer. M. Maupas a vu en effet que le *Par. caudatum* se rechercherait dans les premières heures du jour et il a observé que le plus souvent les couples pris dans diverses cultures et tués aux mêmes heures présentaient les mêmes stades de division micronucléaire. Il a en outre généralisé et confirmé l'observation de M. Balbiani mais en omettant de la citer (*Journal de micrographie*, t. VI, 1882, p. 113,) que l'appauvrissement nutritif du milieu contribue à la formation des couples et il s'est même servi de ce moyen pour provoquer presqu'à coup sûr les conjugaisons.

Quant à ce qui concerne les phénomènes préliminaires de la conjugaison, il nous semble que M. Maupas méconnaît bien à tort l'excitation qui la précède ; il s'élève même vivement contre le terme de *rut* appliqué à cette excitation et pousse à ce propos une pointe dans le domaine de la physiologie comparée. Le rut n'existerait réellement d'après lui que chez les animaux supérieurs, chez les mammifères et coïnciderait avec la maturation de la vésicule de Graaff. Il n'existerait par conséquent que chez les femelles. L'auteur me semble confondre ici deux phénomènes absolument différents. A quel ordre d'excitation rattachera-t-il donc les préliminaires de l'accouplement que l'on observe d'un bout à l'autre de l'échelle animale depuis les oiseaux dont certaines espèces revêtent à ce moment la livrée des amours jusqu'aux tritons et aux grenouilles en passant par les insectes, les crustacés qui n'ont pourtant pas de vé-

sicule de Graaff? Que M. Maupas veuille restreindre le sens du mot rut aux manœuvres préconjugales des mammifères passe encore, mais par le fait même que deux individus se recherchent et s'accouplent, il faut admettre une impulsion, une excitation que l'on est bien contraint d'appeler sexuelle si comme l'admet l'auteur lui-même la conjugaison des ciliés est l'homologue d'une fécondation.

Nous voudrions arrêter là cette analyse dont le cadre exigu ne peut contenir tous les faits étudiés par l'auteur mais force nous est — bien à regret cependant — d'aborder un autre côté du travail de M. Maupas, qu'il nous est impossible de passer sous silence; nous voulons parler du côté critique. Préoccupé sans doute de pénétrer l'esprit des travaux de ses devanciers M. Maupas a négligé d'en étudier la forme. Il eut vu alors que la critique des idées scientifiques d'un adversaire peut fort bien revêtir un caractère courtois sans perdre de sa force, il n'eut pas oublié que la première observation est toujours la plus malaisée à faire dans le domaine délicat de la micrographie et que celui qui la publie a droit au respect et à la reconnaissance de ceux qui, s'engageant après lui dans la même voie, utilisent ses découvertes en les interprétant autrement ou en modifiant des points de détail. Ce que Bütschli, lui, a fort bien compris. Si en parlant du professeur Balbiani M. Maupas avait employé les termes dont a jugé convenable de se servir le savant allemand, son travail n'y aurait rien perdu. Quant au ton dédaigneux avec lequel l'auteur traite les objections que je lui ai faites dans une précédente analyse sur sa théorie de la sénescence, je ne le relèverai que pour lui demander s'il trouve étrange que des expériences instituées en vue de contrôler des recherches qui ont duré deux années puissent s'effectuer entre l'apparition d'un travail et son compte rendu critique. F. D.

G. Pouchet. — **Du cytoplasme et du Noyau chez les Noctiluques** (*Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, n° 19, 4 nov. 1889, p. 706-707).

Continuant la série de ses recherches sur la reproduction des Noctiluques M. le prof. Pouchet a observé la façon dont se comporte le noyau de ces organismes au moment de la gemmation. A l'état de repos il se compose d'un cône de chromatine colorable par le vert de méthyle reposant par sa base contre la paroi nucléaire et plongeant par son sommet dans le suc nucléaire qui constitue le reste du noyau. Quand celui-ci s'apprête à se diviser il s'allonge transversalement et devient ovoïde, le cône de chromatine suivant le mouvement prend la forme d'une crête et semble alors formé d'un certain nombre de filaments ou de fuseaux allant de la base

au sommet mais tandis que dans la division de la plupart des noyaux cellulaires le plan de division tombe perpendiculairement aux filaments chromatiques, chez la Noctiluque il leur est parallèle.

Au fur et à mesure que les noyaux se multiplient et que le nombre des gemmes augmente, la substance chromatique prédomine sur la substance achromatique de telle sorte que, chez les gemmes arrivés à l'état libre, le noyau se colore complètement et uniformément sous l'action du vert de méthyle.

F. D.

L. Bræmer. — **Un nouveau réactif histo-chimique des tannins** (*Soc. d'Histoire naturelle de Toulouse*, séance du 23 janvier 1889).

D'après l'auteur tous les réactifs proposés jusqu'ici pour déceler la présence du tannin dans les tissus présentent l'inconvénient de précipiter non seulement en présence de ce corps mais encore en présence de tous ses dérivés. Le mélange de 1 gramme de tungstate de sodium, 2 grammes d'acétate de sodium et d'une quantité d'eau distillée suffisante pour former un volume total de 10 cc. ne présenterait pas ces inconvénients. Seuls les acides *gallo-*, *querci-*, *ellago-* et *catéchitanniques* donnent dans les coupes qui en contiennent et qui sont traitées par ce réactif un précipité jaune paille, granuleux insoluble dans l'eau, les solutions salines, acides ou alcalines, soluble au contraire dans la solution concentrée d'acide tartrique.

F. D.

A. Certes. — **Sur un spirille géant développé dans les cultures de sédiments d'eau douce d'Aden** (*Bulletin de la Soc. Zoologique de France,* t. XIV, p. 322, 23 juillet 1889).

En plaçant dans de l'eau stérilisée des plaques de conferves prises à l'entrée des citernes d'Aden et desséchées avec les soins voulus, M. Certes a obtenu une revivification partielle de leur faune et de leur flore. Il a observé notamment dans ces cultures un spirille remarquable par sa taille et certaines particularités d'organisation auquel il propose de donner le nom de *Spirobacillus gigas.*

A l'état d'activité le *Spir. gigas* présente la forme d'une spirale à tours étroitement accolés, d'une longueur totale de 15 à 35 μ. La largeur des spires qui semble à peu près constante est de 7 à 8 μ environ et le filament qui les constitue ne dépasse pas 1 μ de largeur. Le nombre de tours de spires des individus varie de 2 à 45. Les individus adultes paraissent absolument transparents

et se meuvent par des ondulations tantôt verticales tantôt horizontales. On trouve encore des individus sporifères dont le mouvement se rapproche davantage de celui que l'on a constaté chez les autres formes de spirilles et qui consiste en une rotation rapide autour de l'axe de la spirale.

L'auteur n'a pu suivre le développement de cette forme par des cultures sur gélatine.

F. D.

A. Chauveau. — **Sur le transformisme en microbiologie** (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CIX, p. 554, 597).

Nous avons analysé dans le tome I des *Annales de micrographie*, page 342, les recherches préliminaires de M. Chauveau sur la variabilité pathogène *descendante* et *ascendante* du *Bacillus anthracis*. Ce savant revient aujourd'hui sur le même sujet, l'éclaire de nouveaux faits et en tire des déductions du plus grand intérêt. On sait déjà qu'en employant l'oxygène sur pression comme agent atténuant M. Chauveau est parvenu à enlever au *Bacillus anthracis* toute virulence proprement dite à l'égard des animaux les plus impressionnables comme le jeune cobaye et la souris, sans toutefois enlever à la bactéridie sa propriété de conférer l'immunité contre le charbon au mouton et au cheval. Il était curieux de constater si par de nouvelles cultures dans l'oxygène comprimé on pouvait parvenir à atténuer encore la bactéridie au point de lui enlever ses facultés vaccinales. Ces expériences, déclare M. Chauveau, n'ont pas mené bien loin, la première expérience a seule donné des cultures fertiles; quant aux cultures ultérieures, malgré la faible tension de l'oxygène abaissé à 2 atmosphères, elles se sont montrées infécondes. Les expériences pratiquées sur les animaux ont en outre démontré que le *Bacillus anthracis*, conduit par l'atténuation aux extrêmes confins de la végétabilité, conserve toujours la faculté de créer l'immunité contre le charbon, autrement dit qu'il ne peut entièrement déchoir de son rôle d'organisme pathogène.

« En résumé, dit M. Chauveau à la fin de la première partie de son mémoire, par la persistance de l'oxygène comprimé sur les cultures du *Bacillus anthracis* en voie de développement, on arrive à créer des races ou types de moindre résistance que le bacille primitif et surtout particulièrement sensibles à l'agent atténuant qui a procuré au bacille ses propriétés nouvelles.

« Si on prolonge cette influence de l'agent atténuant, les types nouveaux finissent par perdre l'aptitude à végéter à son contact.

« Mais tant que le bacille ne franchit pas les limites de la végétabilité, il reste aussi dans le domaine des agents pathogènes. Il perd,

il est vrai, toute propriété virulente; mais il conserve intégralement la propriété vaccinale, et il la garde, à peu près intacte, pendant toute la durée de son existence.

« Ces nouveaux caractères sont fixes et s'entretiennent facilement par la culture, dans les générations successives. Ainsi en considérant ces types en eux-mêmes, sans tenir compte de leur origine, pourrait-on les regarder comme formant une espèce distincte.

« Il ne serait pas impossible que ces types spéciaux de *Bacillus anthracis* existassent dans la nature, avec des propriétés absolument identiques à celles des races créées et entretenues dans les laboratoires. »

La restitution de la virulence primitive au bacille, amené dans l'impossibilité de nuire, mais toujours capable de vacciner efficacement, n'a pas été sans présenter de sérieuses difficultés expérimentales.

Le *Bacillus anthracis*, inoffensif cultivé sous l'oxygène décomprimé dans des bouillons contenant un peu de sang de cobaye a donné une race de virulence ascendante capable de tuer les souris, les cobayes et même les lapins, mais les moutons et les petits ruminants n'ont éprouvé à la suite des inoculations de ce bacille modérément virulent aucun trouble sérieux, cependant ils ont été vaccinés.

Pour rendre la culture charbonneuse, pathogène et mortelle pour le mouton, il est nécessaire de cultiver la bactéridie en présence du sang de mouton; l'on obtient ainsi un nouveau type de *Bacillus anthracis* meurtrier pour les petits ruminants. Il serait intéressant de savoir, si on pourra dans la suite obtenir de nouvelles espèces capables de conférer le charbon aux solipèdes et ovipares Dès aujourd'hui on est fixé sur ce fait remarquable, à savoir: qu'on peut détruire progressivement la virulence de la bactéridie charbonneuse et la reconstituer à volonté, en créant d'abord des espèces bacillaires types à virulence *descendante*, et revenir ensuite du microbe inoffensif au microbe meurtrier pour les moutons en repassant par les mêmes types à virulence *ascendante*. Si, comme il est permis de l'espérer, on peut étendre ces expériences non seulement aux bactéries pathogènes, mais aux microbes dont l'industrie utilise tous les jours les facultés biochimiques, la découverte de M. Chauveau semble devoir être féconde en magnifiques résultats.

Dr M.

Dom Pedro. — **Vaccination contre la rage** *(Comptes rendus de l'Académie des Sciences,* t. CIX, p. 694).

Sa Majesté l'empereur du Brésil, communique à l'Académie, la statistique du traitement préventif de la rage, relevée du 9 fév. 1888

au 15 septembre 1889 à l'Institut Pasteur de Rio de Janeiro dont le Dr Ferreira dos Santos est le Directeur.

Sur 360 personnes qui se sont présentées à cet Institut, 198 seulement ont été soumises aux inoculations, les autres ayant été jugées mordues par des chiens non enragés.

5 personnes très légèrement mordues n'ont pas poursuivi le traitement, une autre a succombé en cours de traitement, c'est la seule d'ailleurs qui soit morte de rage.

Cet insuccès unique, abaisse donc la mortalité par la rage à 0,64 p. 100.

Dr M.

Duclaux. — **Sur la conservation des levures** (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 375).

Dans cette étude sur la résistance des levures à la vieillesse, M. Duclaux a utilisé les cultures fort âgées conservées dans le laboratoire de M. Pasteur depuis 11 à 17 ans. La levure vieillie prélevée dans le fond des ballons préservés de la chute des poussières extérieures, a été ensemencée soit dans de l'eau de navet sucrée, soit dans du moût de bière non houblonné. Les résultats obtenus sont consignés dans un tableau permettant de déduire les faits suivants :

Sur les 26 échantillons de levures, dont le rajeunissement a été tenté, 20 fois les levures ont été trouvées vivantes ; une datait de 17 ans, une seconde de 16 ans, les 18 autres de 11 à 16 ans.

Parmi les 6 cultures dont les dépôts se sont montrés inféconds, l'une était vieille de 11 ans, les 4 autres de 15 à 16 ans.

Il est à noter que la plupart des levures mortes ont été trouvées dans les liquides les plus fortement acides, dont l'action néfaste pouvait être facilement prévue.

M. Duclaux cherche ensuite à laver M. Pasteur du reproche qu'on lui a fait de n'avoir pu obtenir par ses procédés des cultures à l'état de pureté. Pour ceux qui connaissent l'habileté de M. Pasteur, c'était, nous croyons, une peine inutile ; et on préférera supposer que M. Duclaux a choisi ce prétexte pour exposer les méthodes trop oubliées qui permettent en effet de séparer les espèces microscopiques les unes des autres, sans avoir recours aux plaques de gélatine. Vouloir démontrer avec des cultures de 15 à 16 ans que M. Pasteur avait eu au début de ses expériences des espèces pures, c'est, il nous semble, ne pas tenir compte de celles qui ont pu mourir durant cet intervalle de temps, à côté de celles qui ont survécu.

Quoi qu'il en soit, nous tomberons d'accord avec M. Duclaux sur ce point, c'est que M. Pasteur a obtenu des cultures pures quand

il l'a voulu, comme tous les micrographes peuvent aisément en obtenir sans avoir recours aux *substrata* solides. Le procédé du Dr Koch est loin d'être infaillible, nous ajouterons même qu'il est dangereux entre les mains des expérimentateurs novices, à cause de la fausse sécurité dans laquelle il peut les entretenir. En veut-on un exemple ? Il y a environ 3 ans, nous récoltions un micrococcus d'un très beau jaune, sur une plaque de gelée présentant au plus 3 à 4 colonies ; cette plaque avait été faite avec de l'eau de la Dhuis, la colonie fit l'objet de 3 piqûres, et tous les 5 à 6 mois, une de ces piqûres primitives, parfois deux, fournissaient la matière à un nouvel ensemencement sur de la gélatine fraîche. Il y a 18 mois, nous nous aperçûmes que les cultures récentes en forme de clou palissaient ; enfin, de jaune, l'espèce est aujourd'hui devenue blanche. La culture primitive, restée toujours jaune malgré le temps, ne donne plus aujourd'hui que des clous blancs. Il ne s'agit pas, comme on peut le supposer, d'une variation chromatique, car le micrococcus jaune se retrouve encore dans quelques cultures récentes, mais d'un cas de mélange *ab ovo* d'espèces d'inégales résistances à la vieillesse ; la jaune moins vivace que la blanche, est morte en laissant le terrain peuplé encore au bout de trois ans de micrococcus blancs. On doit donc être averti de ces erreurs à longue portée, n'accepter la méthode de séparation par les plaques que comme une opération préliminaire, et ne déclarer les microbes à l'état de pureté que lorsqu'ils auront subi alternativement sans déceler de mélange, les cultures dans des liquides, et des *substrata* solides appropriés.

Dr M.

Prof. Dr J. Soyka et F. Kral. — **Directions pour la création de musées bactériologiques** (*Zeitschrift für Hygiene*, Bd. IV, 1, 143.)

Il est fréquemment nécessaire, dans l'enseignement et dans les laboratoires, d'avoir sous la main des cultures pures des différentes espèces de bactéries, soit pour en faire la démonstration, soit dans le but de les comparer avec d'autres cultures. Malheureusement les cultures, surtout celles en plaques sur milieux solides sont sujettes à différents accidents, elles se dessèchent, sont infectées fortuitement, etc. M. le professeur Soyka et M. F. Král ont, pour ce motif, cherché le moyen d'assurer leur conservation et sont arrivés, paraît-il, à d'excellents résultats par les procédés suivants.

Pour conserver les cultures sur *pommes de terre* les auteurs se servent de boîtes de verre cylindriques avec un couvercle rodé d'un diamètre de 45 millimètres et hautes de 22-25 millimètres. Les

pommes de terre, après avoir été nettoyées, stérilisées extérieurement (solution de sublimé à 1/1000) pelées et cuites, sont taillées en cylindre au moyen d'un emporte-pièce dont le diamètre correspond exactement à celui des boîtes. Les cylindres sont coupés en tranches de 5-7 millimètres d'épaisseur que l'on introduit dans les boîtes préalablement stérilisées. Le tout est alors de nouveau stérilisé à nouveau dans la vapeur à 100°, au besoin à plusieurs reprises. Remarquons à cet égard qu'avec un autoclave on peut singulièrement simplifier ces différentes opérations et stériliser le tout en une fois à 115° sans avoir besoin de désinfecter d'abord extérieurement les pommes de terre. On inocule alors sur les pommes de terre les microbes voulus et on les laisse dans une chambre humide jusqu'à ce que la culture ait acquis le développement nécessaire.

Pour souder les couvercles et produire une fermeture hermétique on se sert alors de paraffine liquide ; cette petite opération exige toutefois, pour être menée à bien, des soins minutieux. On commence par remplacer le couvercle par une plaque de verre chauffée à 100-120° (pour que les bords de la boîte se chauffent), on nettoye la surface interne du couvercle et on le chauffe fortement le tenant au-dessus d'un bec de Bunsen. Quand il est un peu refroidi (environ 70°), on plonge ses bords dans de la paraffine liquide et on le pose rapidement sur la boîte après avoir enlevé la plaque de verre qui la recouvrait. Quand la paraffine commence à prendre on badigeonne les jointures avec un pinceau enduit de paraffine liquide. Il ne faut pas pour faire ceci attendre que la paraffine se soit refroidie entièrement, sinon la fermeture n'est pas hermétique, il ne faut pas non plus qu'elle soit encore liquide, ni qu'on ajoute de la paraffine trop chaude, sans cela une mince couche s'étend par capillarité sur la surface interne du couvercle. Quand la paraffine est tout à fait refroidie, on enlève ce qu'il y a de trop avec un couteau ; on peut, si l'on veut, la recouvrir d'un vernis. Les auteurs ont obtenu ainsi des cultures qui sont depuis 2 ans 1/2 en parfait état de conservation. De 5 à 15 jours après cette fermeture hermétique, les cultures s'arrêtent dans leur croissance (à moins qu'il ne s'agisse d'anaérobies) et leur aspect ne se modifie plus.

Pour conserver les *cultures sur plaques* on emploie des boîtes de verre rondes plates, d'un diamètre de 55 millimètres et de 12 millimètres d'épaisseur et munies d'une tubulure latérale. Ce sont donc des bouteilles plates et circulaires. On introduit un peu de gélatine (ou de *gélose*), on ferme le cou de la bouteille avec de la ouate et on stérilise. Pour faire les cultures sur plaques, on liquéfie la gélatine et on y sème au moyen d'un fil de platine une trace d'une culture convenablement diluée. On mélange et on laisse la gélatine se prendre dans la bouteille posée à plat. Quand la culture est bien développée, on plonge le cou de la bouteille dans de la paraffine

liquide, à 100°, ce qui procure comme précédemment une fermeture hermétique. La difficulté de cette opération consiste à obtenir la dilution nécessaire pour n'avoir que 5 à 10 colonies par plaque. C'est pourquoi il est utile de faire simultanément plusieurs plaques de différents degrés de dilution, les cultures sur plaques peuvent être examinées à un faible grossissement.

Les cultures traitées par la méthode de MM. Soyka et Král restent très longtemps vivantes (2 ans 1/2 dans plusieurs cas) ; on pourra donc se servir avec avantage de ce procédé pour assurer leur existence sans être obligé de recourir à de fréquentes transplantations. E. F.

Dr Achille Monti. — **Influence des produits toxiques des saprophytes sur la restitution de la virulence aux microparasites atténués** (*Rendiconti della R. Accademia dei Lincei*, V, 2, facs. 7, p. 155).

L'auteur rend compte d'un certain nombre d'expériences dont il résulte que les pneumocoques de Fraenkel, les streptocoques pyogènes et les staphylocoques affaiblis et dépourvus de leur activité par des cultures répétées, se montrent de nouveau virulents quand on injecte en même temps les produits de culture de certaines bactéries de la putréfaction.

Le titre du travail de M. Monti ne nous semble, toutefois, pas heureusement choisi. Il n'y a là, en effet, pas, à proprement parler, de restitution d'une virulence perdue ou affaiblie ; la virulence reste, au contraire, ce qu'elle était, c'est-à-dire affaiblie, mais mise en contact avec un organisme livré en même temps à l'action des produits toxiques des bactéries de la putréfaction, elle se trouve encore assez forte pour déployer des effets nocifs qu'un organisme normal aurait supportés sans dommage. E. F.

Prof. Mendoza. — **Sur le mouvemenent propre des microcoques** (*Centralbl. für Backteriol. u. Parasitenk,* VI, 21, p. 566).

Nous avons rendu compte (p. 81 du second volume de ces *Annales*) d'un travail de M. Ali-Cohen sur un micrococcus doué d'un mouvement propre. Il paraît que M. le professeur Mendoza, de Madrid, avait en 1887 déjà, découvert un micrococcus mobile, dont il a présenté alors la description à la Société de biologie de Madrid. En cherchant à isoler la *Sarcina ventriculi* (Goodsir) M. Mendoza avait trouvé, en effet, sur des plaques, des colonies d'un micrococcus en forme de tétrades qui attira son attention par sa mobilité. Cet organisme, dont les tétrades avancent, dans les milieux liquides, rapidement, en roulant sur elles-mêmes, croît bien, sur différents

milieux. Sur les plaques de gélatine, les colonies ne se montrent qu'à la surface, ce qui indique son caractère aérobie. Elles sont d'un blanc sale, rondes, avec des bords nets, et finement granulées. Le centre est un peu plus foncé que les bords, qui sont un peu transparents. Cet organisme ne liquéfie pas la gélatine. En vieillissant, les colonies deviennent couleur de sucre et donnent l'odeur du scatol. Dans le bouillon les cultures se déposent au fond du vase. L'auteur propose de l'appeler *Micrococcus tetragenus mobilis ventriculi*.

E. F.

Douglas Cunningham. — **Les bacilles virgules sont-ils vraiment la cause de la diffusion épidémique du choléra, même en admettant qu'ils soient la cause première des symptômes du choléra** (*Archiv für Hygiene*, IX, 4, p. 406) ?

Ainsi que le laisse entrevoir le titre de son mémoire, M. Douglas Cunningham, quoiqu'il ne paraisse pas absolument convaincu de la spécificité du bacille virgule, ne la nie cependant pas complètement non plus. Il met seulement en doute que ce microorganisme puisse vraiment à lui seul être la cause de la diffusion des épidémies cholériques. Il se fonde pour appuyer sa manière de voir : 1° sur le peu de résistance des germes cholériques, tel qu'il ressort de ses propres expériences. Dans l'eau, en effet, le bacille disparaissait au bout de 4 - 9 jours. Dans l'eau cuite seulement, soustrait à l'action des autres microorganismes, il resterait viable 25 jours. Dans la terre seule ou mélangée à des matières fécales, l'auteur l'a vu disparaître en 6 - 26 jours ; dans la terre stérilisée par cuisson, par contre, il put le retrouver vivant encore au bout de 47 jours ;

2° Sur les obstacles que crée au bacille l'acidité des sucs de l'estomac et sur le peu de vraisemblance de l'existence de spores capables de résister à ces influences nocives. Il faut donc, conclut l'auteur, que des circonstances locales, fournissent au bacille un terrain favorable, soit par exemple par la diffusion épidémique d'un état dyspeptique anormal, soit que ces circonstances locales modifient les conditions d'existence du bacille (formation de spores entre autres). Nous n'avons pas à discuter ici cette théorie, dont M. de Pettenkofer est depuis longtemps le plus éloquent défenseur, mais nous ne pouvions omettre de faire connaître l'opinion d'un savant auquel sa grande expérience et la position officielle, qu'il occupe dans le monde médical des Indes, donnent une autorité incontestable dans tout ce qui se rattache à la question du choléra.

E. F.

L'Éditeur-Gérant :
Georges CARRÉ.

Tours. — Imp. DESLIS FRÈRES.

ANNALES

DE MICROGRAPHIE

ÉTUDE SUR LA FERMENTATION AMMONIACALE ET SUR LES FERMENTS DE L'URÉE (*suite*)

Par le Dr P. MIQUEL

§ III. — Description des espèces

Urobacillus Duclauxii *sive* Bacillus ureæ β

Cultures de l'Urobacillus Duclauxii. — L'aspect des cultures de ce bacille dans les urines artificielles nous est déjà connu ; on sait que ces sortes de liqueurs présentent 10 à 12 heures après l'ensemencement, un trouble léger qui s'accentue rapidement pendant quelque temps, et diminue ensuite à la fin de la fermentation. Dans les urines animales, ce trouble est beaucoup plus intense, et s'accompagne d'un précipité assez volumineux formé d'urates d'ammoniaque et de phosphate ammoniaco-magnésien.

Les urines normales ne donnent pas après la fermentation un excès sensible d'urase, ce qui tient au peu de nutritivité de ces liquides pour les espèces bactériennes en général ; on n'ignore pas que j'ai établi depuis longtemps, que l'altérabilité des urines est environ douze fois moindre que celle du bouillon de bœuf (1). Le bouillon de peptone est légèrement plus sensible à l'action des bactéries que le bouillon fabriqué dans les ménages, aussi quand on veut obtenir de l'urase dans les urines stérilisées par la chaleur, il est indispensable d'augmenter leur nutritivité, en les additionnant de peptone, ce qui du reste favorise l'éclosion de

(1) *Organismes vivants de l'atmosphère*, page 192, 1883.

l'espèce, rend son rajeunissement moins incertain et accélère la fermentation.

Dans les urines normales alcalinisées et stérilisées par filtration, la production du ferment soluble est incomparablement plus élevée, l'urine acquiert une viscosité manifeste. Cela explique pourquoi la vessie des ammonuriques peut contenir du ferment soluble, ainsi que M. Musculus l'a démontré, alors que les urines stérilisées par la chaleur et placées dans des récipients de verre au contact de l'air en montrent peu ou pas du tout. Cette même remarque nous fixe, sur la cause des insuccès des expérimentateurs qui ont voulu retirer l'urase des urines fermentées. Plusieurs d'entre eux sont partis de cette idée préconçue, que les urines étaient des milieux de prédilection pour les bactéries urophages, c'est là une erreur absolue; ces liqueurs animales sont relativement peu nutritives et même toxiques pour les urobactéries.

L'*Urobacillus Duclauxii*, ensemencé dans le bouillon rigoureusement neutralisé, ne donne jamais lieu à une culture féconde, la liqueur ne perd rien de sa limpidité, elle n'a pas d'action néfaste sur l'espèce, mais elle ne favorise aucunement son développement ; il en est de même du bouillon Liebig, ainsi que j'avais annoncé ce fait singulier il y a 8 ans. Quand on pratique comme c'est mon habitude des cultures par centaines, il peut arriver qu'un fait discordant se glisse dans les résultats obtenus, une seule fois (culture du 10 décembre 1887), le bacille de Duclaux s'est développé visiblement dans du bouillon de peptone après 10 à 12 jours d'incubation à 30°; le liquide étant devenu alcalin, il ne m'a pas été possible de m'assurer de son exacte neutralité initiale. J'avais tout d'abord pensé à une cause fortuite d'infection comme il peut s'en produire dans les manipulations les plus soigneuses ; cette crainte n'était pas fondée, une série de recherches ont établi nettement que l'espèce est bien l'*Urobacillus Duclauxii* à l'état de pureté, et cette vieille culture est encore aujourd'hui peuplée d'organismes vivants capables de déterminer des fermentations très actives.

Les liquides neutres dont les éléments constitutifs sont des substances minérales ou des sels organiques cristallisés,

ne conviennent pas mieux au développement de cette espèce.

Il en est tout autrement des liqueurs peptonisées alcalinisées, le microbe semé dans le bouillon rendu ammoniacal, y croît assez promptement en produisant dès le second jour un trouble d'abord léger qui devient plus tard très intense, des dépôts assez abondants apparaissent au fond du vase, le liquide devient visqueux, contracte une odeur désagréable et accuse une très grande quantité de ferment soluble.

Semé par piqûres dans la gélatine nutritive ordinaire, l'*Urobacillus Duclauxii*, ne donne pas de cultures fécondes; si la gélatine ordinaire est rendue alcaline, on voit apparaître dans le chemin parcouru par le fil de platine contaminé, un filet muqueux d'apparence, qui devient mieux visible avec le temps, et paraît constitué plus tard par une infinité de sphérules blanches dont la croissance reste bientôt stationnaire. Si la gélatine renferme de l'urine ou de l'urée, un brouillard de cristaux envahit la masse dès le second jour, les colonies nées dans le trajet du fil sont à peine visibles. Au bout de 3 à 4 mois la gélatine se clarifie et se transforme en un liquide ammoniacal très sirupeux. Les gélatines simplement alcalinisées ne sont le siège d'aucune liquéfaction.

En résumé, l'*Urobacillus Duclauxii* ne dément dans aucune de ses cultures, sauf dans le bouillon alcalinisé, son caractère de bactérie peu envahissante, modeste dans son développement, et j'ajouterai également, la faculté de rester toujours un ferment figuré prompt et énergique.

Il m'est possible d'ajouter encore que ce microbe se multiplie dans les liqueurs minérales et autres faiblement nutritifiées par les substances albuminoïdes, qu'il est apte à végéter et à sporuler dans les eaux d'égout et les eaux vulgaires riches en matières organiques, qu'il croît sur la gelée de lichen et la gélose alcalinisées ou contenant de l'urée, mais je le demande, ces détails secondaires communs aux légions innombrables des microbes qui nous entourent, sont-ils dignes d'être mentionnés? Ce serait, il me semble, substituer à des faits intéressants à mettre en relief des descriptions oiseuses dont la littérature bactériologique nous donne de trop nombreux exemples.

Anaërobiose. — Les résultats contradictoires de mes expériences sur la fermentation ammoniacale tentée à l'abri de l'oxygène avec l'*Urobacillus Duclauxii*, m'ont engagé à étudier de très près ce phénomène. Les vases d'urine normale ou artificielle vidés à 30° par la pompe à mercure, ensemencés préalablement avec l'urobacille, fermentent, si l'espèce se rajeunit. La pompe à mercure m'a paru un instrument défectueux pour ces recherches délicates. J'ignore, en effet, si elle permet d'entraîner la totalité de l'oxygène dissous dans les liquides, si le vide seul est suffisant pour vaincre les attractions moléculaires qui peuvent s'établir entre les gaz et les liquides, et qui sont comparables à celles qui s'établissent entre les liquides et les solides ; si en un mot un litre de bouillon étant donné, on peut à 30°, le débarrasser entièrement des 40 milligrammes d'oxygène qu'il contient en dissolution, lorsqu'il est complètement saturé d'air atmosphérique ; je ne le pense pas, ou du moins mes observations paraissent prouver le contraire.

Dans le chapitre traitant des méthodes générales d'investigation, applicables à l'étude des ferments ammoniacaux, j'ai mentionné brièvement pour ne pas le noyer dans des descriptions trop minutieuses un procédé de culture des êtres anaérobies, consistant à purger par la chaleur, l'air des liquides, maintenus à l'abri de l'atmosphère par une forte couche de substance neutre, peu perméable aux gaz. Pour ces cultures, on peut se servir utilement soit des tubes à essais étranglés vers leur milieu ou des matras à essayeur à gros col, ce qui permet sans risque de déversement la dilatation et même l'ébullition du liquide. Sous l'action de la chaleur, l'air dissous s'élève jusqu'à la couche de la substance fusible, la traverse en bullettes, et se trouve ainsi expulsé du milieu où il se trouvait dissous. Dans un autoclave, on dispose une vingtaine de matras remplis au 4/5 de liquide, sur lequel on verse une couche de vaseline paraffinée (1), à 2 ou 3 p. 100, haute de 5 à 6 centimètres, et munis d'un fort tampon de ouate ; l'autoclave est porté à 110°, et purgé d'air au

(1) A la rigueur, la vaseline blanche bien épurée peut servir dans ces expériences, cependant je préfère lui substituer un mélange formé de 98 grammes de vaseline pour 2 de paraffine, qui donne du corps à la couche, et augmente un

moyen d'un jet de vapeur soutenu pendant toute la durée de la stérilisation, environ pendant une heure, puis avant que la pression de l'appareil soit devenue négative, on ferme le robinet purgeur, on y adapte un tube de caoutchouc mis en communication avec un gazomètre plein d'acide carbonique. Le robinet est ouvert, quand la pression de l'autoclave est devenue négative par rapport à l'atmosphère ; l'acide carbonique vient donc à la place de l'air remplir l'autoclave pendant le refroidissement. Le lendemain, on

---

peu son infusibilité. J'ai d'ailleurs fait à cet égard quelques expériences que je peux rapporter, et condenser dans un tableau :

	Proportions du mélange	*Point de fusion.*
Vaseline pure		31°5
1er mélange	vas. 47.5 + paraf. 2.5	36°0
2e mélange	vas. 45.0 + paraf. 5.0	39°0
3e mélange	vas. 40.0 + paraf. 10.0	42°0
4e mélange	vas. 30.0 + paraf. 20.0	45°0
5e mélange	vas. 25.0 + paraf. 25.0	48°0
6e mélange	vas. 20.0 + paraf. 30.0	?
7e mélange	vas. 10.0 + paraf. 40.0	?
Paraffine pure		53°5

Le mélange 1er est d'un blanc opalin plus consistant que la vaseline, adhérent au verre, peu rétractable et se creuse facilement sous la pression du doigt, je le considère comme devant être employé de préférence aux mélanges suivants.

Le 2e mélange présente la consistance de l'axonge du porc à la température ordinaire, il est très peu rétractable, bien lié et d'une grande blancheur ; il se montre moins mou que le précédent ; on pourra l'employer pour les cultures à effectuer entre 35 et 37°.

Le mélange 3e qui contient 10 grammes de paraffine, convient moins ; il a la dureté du suif, il se rétracte un peu, ce qui peut amener parfois entre lui et le verre une lame mince de liquide, ce qui est un grave défaut.

Les mélanges 2e et 3e piqués avec l'extrémité ouverte d'un tube de verre fermé à l'autre bout, pénètrent dans le tube, de tout le volume déplacé par le tube considéré comme plein ; on voit donc le boudin s'élever dans le cylindre bien au-dessus de la surface de la masse du mélange, puis quand on retire le tube, le boudin intérieur est complètement chassé par l'air comprimé, sous forme d'un cylindre flexible vermiculaire ; cet essai démontre doublement combien l'adhérence de ces mélanges peut être parfaite ; le mélange 1e présente la même faculté, mais sa mollesse rend cette expérience moins saisissante,

Le mélange 4e assez dur, fusible à 45°, présente une rétractation très forte, on ne peut l'utiliser pour les expériences sur la vie des anaérobies.

Le mélange 5, dur comme le beurre de cacao, paraît encore homogène dans sa masse, il est très blanc.

Quant aux derniers mélanges 6e et 7e, dont je n'ai pu prendre les points de fusion, par suite de leur hétérogénité, ils ont l'apparence de la naphtaline fondue, ils sont remplis de taches moirées, et me paraissent d'un plus mauvais usage que la paraffine pure que j'ai eu à ma disposition, et dont le point de fusion a été trouvé égal à 56° 5.

retire les tubes munis de leur couche supérieure solidifiée, et l'air ne saurait avoir accès jusqu'au liquide emprisonné dans le matras. Le peu d'élasticité, ou si l'on préfère, la molesse du mélange paraffiné est telle que la dilatation des liquides de culture, due à l'élévation de la température de 10° à 30°, se manifeste par la pénétration du liquide dans la masse, sans émission de liquide au dehors. Pendant la contraction, l'atmosphère pèse sur la vaseline, d'une manière si régulière que la moindre bulle d'air n'arrive jamais jusqu'à la culture.

J'ai trouvé par les réactifs chimiques qu'il n'existe pas de trace appréciable d'oxygène dans les milieux confectionnés avec ces soins. L'*Urobacillus Duclauxii*, très vivace, semé dans de l'urine artificielle préparée avec les précautions décrites qui précèdent, ne détermine aucune fermentation. Si on introduit dans ces cultures quelques centièmes de milligrammes d'oxygène, la fermentation s'établit, puis s'arrête quand cette provision d'air vital est épuisée. Si on la renouvelle, la fermentation reprend pour se suspendre dès que l'oxygène vient à faire de nouveau totalement défaut.

Voici comment je pratique ces additions successives d'oxygène : le vase ensemencé par l'urobacillus, est taré et placé dans un bain maintenu à 36° ; puis au moyen d'un entonnoir soufflé à pointe effilée (forme pipette à boule), contenant de l'eau stérilisée saturée d'air par agitation, j'ajoute un poids d'eau facile à évaluer par une seconde pesée. On peut admettre d'après les tables de Bunsen et les expériences de Schützenberger, que l'eau stérilisée, ainsi agitée au contact de l'air, tout en restant à l'abri des poussières, renferme environ 28 à 30 cmc. d'oxygène dissous par litre, soit à peu près 0 gr., 040 d'oxygène par 1.000 cmc ; chaque cmc d'eau introduite dans les urines représente donc 0 mgr., 04.

D'après cette supposition qui doit être fort voisine de la réalité et les résultats de plusieurs séries d'expériences dans lesquelles de nombreux matras, ensemencés au préalable, ont reçu un volume d'eau aérée à peu près proportionnel, il résulte que la conversion de un gramme d'urée par l'*Urobacillus Duclauxii* réclame environ à 30°, 0 mgr., 15

d'oxygène libre. Dans les conditions où j'ai opéré, c'est-à-dire avec 50 cmc d'urine artificielle contenant 1 gr. d'urée, j'ai dû ajouter 4 cmc. d'eau saturée d'oxygène, pour déterminer une fermentation complète. Je donne ici des résultats moyens, car ces expériences très délicates à conduire, ne concordent pas toujours. Il arrive même assez souvent que les matras chargés d'eau aérée ne sont le siège d'aucune fermentation, ce qui ne tient pas dans ce cas au manque d'oxygène, mais au défaut de rajeunissement de l'espèce. Les matras qui ne reçoivent pas d'eau aérée ne fermentent jamais.

Toutes les expériences tentées sur l'anaérobiose de l'*Urobacillus Duclauxii* qui ont antérieurement donné des résultats positifs, ont donc été exécutées, avec des précautions insuffisantes ; un *modus faciendi* qui laisse dans les vases et les liquides moins d'un millimètre cube d'oxygène par litre, permet au bacille de se développer et d'accuser son développement par la production de quantités dosables de de carbonate d'ammoniaque. Du reste, après m'être placé à l'abri de l'oxygène autant que le comporte le procédé décrit plus haut, les divers autres ferments qui m'avaient paru d'abord anaérobies, se comportent dans ces nouvelles recherches, en organismes incapables de prendre le plus petit essort, et de produire la moindre action à l'abri de l'air.

Vitalité de l'espèce. — L'*Urobacillus Duclauxii* à l'état de bâtonnet adulte est fort sensible à l'action du carbonate d'ammoniaque. Une fermentation de l'urine, vieille de quelques semaines, peut se montrer incapable de provoquer l'infection d'un liquide très nutritif chargé d'urée ; toutefois, si la quantité d'urée est peu élevée dans la fermentation initiale, le microbe présente encore la faculté de revivre au bout de plusieurs mois, ce qu'il est aisé à mettre en évidence, en versant de l'urine artificielle sur les dépôts accumulés au fond des vases. Si l'urine où a été semé le bacille est riche en carbamide (40, 50 ou 100 grammes), l'espèce peut être considérée comme perdue au bout de quelques jours, ce qui n'arrive pas avec l'*Urobacillus Pasteurii*, dont les germes résistent pendant de longs mois dans des liqueurs chargées de 15 à 20 p. 100 de de carbonate d'ammonium.

Dans ses cultures dans le bouillon et la gélatine faiblement alcalinisés, l'*Urobacillus Duclauxii* se conserve pendant des années ; on devra donc pour avoir à sa disposition une espèce toujours active ou facilement révivifiable, le semer dans ces derniers milieux.

Action de la chaleur sur l'espèce. — On a vu que les fermentations par l'urobacille qui nous occupe avaient leur maximum de rapidité vers 40° ; passé ce degré de chaleur, cette rapidité décroît, à 43° l'hydratation de l'urée devient lente et incertaine ; à 45° elle peut encore débuter, mais elle ne va pas loin ; au-delà de 45° la fermentation ne se déclare pas, et le liquide reste inaltéré. A 20°, la fermentation peut s'achever en 2 à 3 jours ; à 15° elle exige 6 à 8 jours : à 8°-10°, elle n'est pas encore complète après un mois d'attente, enfin elle n'est pas possible entre 0 et 5°.

L'*Urobacillus Duclauxii* à l'état adulte, résiste fort mal à l'action de la chaleur, quand on le soumet pendant deux heures dans des ampoules d'eau distillée stérilisée à l'action d'une température décroissante, on obtient les résultats insérés dans le tableau qui suit.

Résistance de l'urobacille à la chaleur

Température soutenue 2 heures	Nombre sur 12 des ampoules restées fécondes
75°	néant
75°	néant
70°	néant
65°	néant
60°	néant
55°	2
50°	7
45°	12

Les germes de cette espèce sont au contraire très résistants, maintenus pendant 2 heures à 80, 85, 90, 92° ; ils ne perdent pas leur fécondité ; portés à 93, 94, 95°, beaucoup sont détruits ; cependant on arrive à déterminer avec le liquide des ampoules chauffé à ces températures, d'assez nombreux cas de fermentation. Passé 95°-96°, les germes périssent et les urines artificielles ne subissent plus aucune altération.

Action des antiseptiques sur l'Urobacillus Duclauxii. — Les expériences en vue de déterminer l'action de quelques antiseptiques vulgaires sur cette espèce ont été conduites comme cela a été précédemment indiqué pour l'*Urobacillus Pasteurii*.

L'*Urobacillus Duclauxii* m'a paru plus sensible à l'action de l'argent que l'espèce que je viens de mentionner ; sous le poids de 1/25000, le nitrate d'argent prévient la fermentation des urines artificielles chargées de 20 grammes d'urée par litre.

Action du Nitrate d'Argent sur l'Urobacillus Duclauxii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de :			
		2 jours	4 jours	6 jours	un mois
0 gr 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 033	1 : 30.000	12 gr 1	»	»	19 gr 00
0 033	1 : 30.000	»	16 gr 6	»	»
0 033	1 : 30.000	12 gr 5	»	»	»
0 025	1 : 40.000	5 6	»	19 gr 3	»
0 025	1 : 40.000	»	»	»	4 gr 03
0 025	1 : 40.000	»	»	»	15 08
0 020	1 : 50.000	19 gr 7	»	»	»
0 020	1 : 50.000	19 7	»	»	»
0 020	1 : 50.000	»	19 gr 8	»	»
0 016	1 : 60.000	19 gr 6	»	»	»

Puis vient le biiodure de mercure aseptique à 1 : 15,000 ; cette substance chimique alors même qu'elle ne s'oppose pas efficacement à la fermentation, la retarde beaucoup et la rend très pénible.

Action du Biiodure de Mercure sur l'Urobacillus Duclauxii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de :			
		2 jours	4 jours	6 jours	un mois
0 gr 066	1 : 15.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	3 gr 5	»	»
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle

Action du Biiodure de Mercure sur l'Urobacillus Duclauxii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de : 2 jours	4 jours	6 jours	un mois
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	»	4 gr 7	»
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 040	1 : 25.000	»	»	»	nulle
0 040	1 : 25.000	»	7 gr 8	»	nulle
0 040	1 : 25.000	6 gr 3	18 2	»	»
0 040	1 : 25.000	9 9	»	»	»
0 025	1 : 40.000	14 6	»	»	»
0 016	1 : 60.000	18 5	»	»	»

Il en est de même du sublimé corrosif dont l'action est moitié moins efficace, mais parfaitement réelle à 1 : 8.000.

Action du Sublimé corrosif sur l'Urobacillus Duclauxii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de : 2 jours	4 jours	6 jours	un mois
0 gr 200	1 : 5.000	»	»	»	nulle
0 200	1 : 5.000	»	»	»	nulle
0 200	1 : 5.000	»	»	»	nulle
0 200	1 : 8.000	»	»	»	nulle
0 100	1 : 10.000	»	5 gr 7	»	»
0 100	1 : 10.000	»	»	»	nulle
0 100	1 : 10.000	»	»	»	nulle
0 100	1 : 10.000	»	»	»	nulle
0 100	1 : 10.000	»	2 gr 3	»	»
0 100	1 : 10.000	»	»	»	nulle
0 100	1 : 10.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	6 gr 6	10 gr 8	»
0 050	1 : 20.000	»	4 10	»	»
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	2 gr 2	»	»	»
0 025	1 : 40.000	8 4	19 gr 8	»	»
0 016	1 : 60.000	»	19 6	»	»

Le sulfate de cuivre vient ensuite et se montre un désinfectant sûr à la dose de 1 gramme par litre d'urine artificielle.

Action du Sulfate de Cuivre sur l'Urobacillus Duclauxii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de :			
		2 jours	4 jours	6 jours	un mois
1 gr 000	1 : 1.000	»	»	»	nulle
1 000	1 : 1.000	»	»	»	nulle
1 000	1 : 1.000	»	»	»	nulle
1 000	1 : 1.000	»	»	»	nulle
0 666	1 : 1.500	»	»	»	nulle
0 666	1 : 1.500	»	7 gr 80	»	»
0 666	1 : 1.500	»	»	»	nulle
0 500	1 : 2.000	»	»	»	nulle
0 500	1 : 2.000	»	»	3 gr 4	»
0 500	1 : 2.000	11 gr 1	»	»	»
0 500	1 : 2.000	12 5	»	»	»
0 500	1 : 2.000	»	16 gr 4	»	»
0 500	1 : 2.000	»	»	»	nulle
0 500	1 : 2.000	»	»	16 gr 4	»
0 333	1 : 3.000	8 gr 5	»	»	»
0 333	1 : 3.000	9 2	»	17 gr 3	»

L'Iode en solution iodurée agit plus efficacement sur l'*Urobacillus Duclauxii* que sur l'*Urobacillus Pasteurii*. A la dose de 1 gramme par litre, il prévient ordinairement la fermentation ammoniacale.

Action de l'Iode sur l'Urobacillus Duclauxii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de :			
		2 jours	4 jours	6 jours	un mois
10 gr 000	1 : 100	»	»	»	nulle
2 000	1 : 500	»	»	»	nulle
	1 : 800	»	»	»	nulle
1 000	1 : 1.000	»	»	»	nulle
1 000	1 : 1.000	»	»	»	nulle
1 000	1 : 1.000	»	»	»	nulle
1 000	1 : 1.000	»	»	»	nulle
1 000	1 : 1.000	»	»	»	nulle
1 000	1 : 1.000	4 gr 6	18 gr 7	»	»
0 666	1 : 1.500	»	»	4 gr 1	»
0 666	1 : 1.500	»	»	»	nulle
0 666	1 : 1.500	14 gr 3	»	»	»
0 500	1 : 2.000	»	»	»	nulle
0 500	1 : 2.000	19 gr 8	»	»	»
0 500	1 : 2 000	19 6	»	»	»
0 500	1 : 2.000	»	»	»	nulle
0 338	1 : 3.000	16 gr 6	»	»	»

L'acide borique nous apparaît toujours comme un mauvais désinfectant, on doit l'ajouter à la dose de 10 grammes par litre d'urine, pour prévenir toute décomposition de l'urée par l'*Urobacillus Duclauxii*. Mais comme je l'ai déjà fait remarquer plus haut, il exerce sur l'hydratation de l'urée une action entravante des plus remarquables, alors même que l'acide borique n'exerce pas d'action sensible sur la végétation du microbe.

Action de l'Acide Borique sur l'Urobacillus Duclauxii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de :			
		2 jours	4 jours	6 jours	un mois
10gr000	1 : 100	»	»	»	nulle
5 000	1 : 200	»	»	»	8gr9
4 000	1 : 200	»	»	»	7 1
3 333	1 : 300	»	»	»	8 9
3 333	1 : 300	»	»	»	8 7
2 500	1 : 400	»	5gr0	»	12 4
2 500	1 : 400	3gr6	7 7	»	»
2 000	1 : 500	3gr5	»	»	»
2 000	1 : 500	»	»	»	nulle
2 000	1 : 500	3gr9	»	»	»
2 000	1 : 500	»	5gr4	»	»
2 000	1 : 500	»	5 3	9gr4	»
2 000	1 : 500	»	4 6	»	»
1 250	1 : 800	»	11 4	»	»
1 250	1 : 1.000	»	10 7	»	»
1 000	1 : 1.000	»	14 3	»	»
1 000	1 : 1.000	2gr8	15 6	»	19gr7
1 000	1 : 1.000	5 7	»	17gr	»
1 000	1 : 1.000	»	14gr9	»	»
1 000	1 : 1.000	»	14 9	»	»
0 500	1 : 2.000	6gr1	»	18gr4	»
0 500	1 : 2.000	»	16gr2	»	»
0 500	1 : 2.000	»	14 6	»	»

Enfin l'acide phénique ne saurait s'opposer à la fermentation d'un litre d'urine artificielle inoculée par l'urobacille en question, sous la dose moindre de 50 grammes. On doit donc le considérer comme un désinfectant à rejeter toutes les fois qu'il sera utile de s'opposer aux fermentations de l'urée.

Action de l'Acide phénique sur l'Urobacillus Dulauxii.

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de :			
		2 jours	4 jours	6 jours	un mois
50 gr 000	1 : 20	»	»	»	nulle
40 000	1 : 25	»	»	»	4 gr 5
20 000	1 : 50	12 gr 3	»	»	»
20 000	1 : 50	3 gr 2	»	12 gr 3	»
20 000	1 : 50	»	7 gr 3	»	8 gr 3
20 080	1 : 50	»	»	»	14 gr 7
20 080	1 : 50	»	»	»	nulle
20 000	1 ; 50	»	»	3 gr 6	«
10 000	1 : 100	15 gr 1	»	»	»
10 000	1 : 100	»	5 gr 9	«	»
10 000	1 : 100	»	3 gr 9	»	»
10 000	1 : 100	»	»	»	17 gr 3
10 000	1 : 100	3 gr 8	»	18 gr 6	»
10 000	1 : 000	»	16 gr 6	»	»
10 000	1 : 000	»	»	»	9 gr 3

Voici le tableau récapitulatif des expériences qui viennent d'être rapportées :

Doses minima de quelques antiseptiques capables de s'opposer efficacement à la fermentation d'un litre d'urine artificielle ensemencée avec l'Urobacillus Duclauxii.

Substances	Poids	Titre des solutions
Nitrate d'argent.	0 gr 040	1 : 25.000
Biodure de mercure.	0 066	1 : 15.000
Sublimé corrosif.	0 125	1 : 8.000
Sulfate de cuivre.	1 000	1 : 1.000
Iode	1 250	1 : 800
Acide borique.	10 000	1 : 100
Acide phénique.	50 000	1 : 20

Il n'existe pas de différence bien notable entre l'action des antiseptiques dont il vient d'être parlé sur les deux espèces étudiées jusqu'ici ; les caractères distinctifs qu'on voudrait déduire de ces deux études comparatives seraient, je crois, bien incertains et bien infidèles. Cependant on verra qu'il n'en est pas toujours ainsi; les urocoques par exemple se montrent très sensibles à l'action des mercuriaux, et le fait qu'une fermentation ammoniacale ne peut s'achever quand l'urine contient 1 : 50,000 de biodure

de mercure ou de sublimé corrosif, indique nettement, quand on a affaire à un mélange de microbes, que l'agent de la fermentation est un urocoque et non un urobacille.

L'*Urobacillus Duclauxii* inoculé aux animaux vivants dans le tissu cellulaire sous-cutané, dans le sang se montre constamment inoffensif, peut-être pourra-t-on plus tard le ranger dans la classe des microbes pathogènes quand on aura établi qu'il peut se cantonner et se maintenir dans la vessie, les bassinets ou les reins, en un mot dans les organes urinaires où certainement sa propriété de transformer l'urée en carbonate d'ammoniaque ne saurait être considérée comme exempte de tout danger.

(*A suivre.*)

DE LA DISSÉMINATION DES BACILLES DE LA TUBERCULOSE EN DEHORS DE L'ORGANISME (1)

Par le Dr G. CORNET

Les recherches entreprises jusqu'ici dans le but de déceler la présence des bacilles de la tuberculose hors de l'organisme vivant, ont été peu nombreuses et surtout peu concluantes. Rappelons seulement les travaux de M. Williams qui a cru en trouver sur des plaques de verre enduites de glycérine qui avaient été exposées à l'air dans le tuyau de ventilation d'une chambre d'hôpital habitée par des phthisiques, de MM. Celli et Guarnieri qui ont cherché, en vain, à les retrouver par la culture des poussières recueillies également dans des salles de phthisiques, de M. v. Wehde et de M. Baumgarten qui firent quelques expériences d'inoculation sur des animaux avec des poussières semblables, et dont une seule semble avoir donné un résultat positif. La question est cependant fort importante, car l'infection débutant dans la grande majorité des cas par le poumon il est à présumer que c'est l'air qui a servi de véhicule au virus organisé découvert par M. Koch et de sa solution dépend, en partie, l'emploi de moyens prophylactiques appropriés. Elle demandait donc à être reprise et tel a été l'objet du présent mémoire. Une véritable ubiquité du bacille de la tuberculose est peu probable étant donnée la difficulté avec laquelle il se cultive hors de l'organisme vivant; c'est donc dans la proximité des malades dont les expectorations, riches en bacilles, ne sont fréquemment l'objet d'aucune précaution de leur part, que l'on a quelque chance de les retrouver. M. Cornet a, par conséquent fait, la plupart de

(1) En raison de son importance nous avons jugé utile de mettre en vue le résumé du travail de M. le Dr G. Cornet, publié dans *Zeitschrift für Hygiene*, V, 2, p. 191. E. F.

ses recherches dans des endroits habités par des phthisiques. Ses recherches ont porté en particulier sur les poussières des appartements plutôt que sur l'air lui-même, nécessairement moins riche en bacilles, attendu que ceux-ci, en raison de leur pesanteur, ont une tendance à se déposer. On verra, en effet, dans la suite, que les expériences faites avec l'air, ont donné constamment des résultats négatifs. Dans ses recherches M. Cornet a eu recours aux inoculations, le seul moyen à employer dans un cas qui rend les procédés habituels de culture des bactéries sur plaques à peu près inapplicables à cause de la lenteur de croissance des bacilles de la tuberculose. Pour les inoculations il s'est servi de cobayes, plus sensibles, on le sait, que les lapins aux inoculations de matières tuberculeuses, auxquels il injectait, dans la cavité péritonéale après les avoir diluées dans du bouillon stérilisé, les poussières recueillies dans des chambres de phthisiques, sur les parois ou les bois de lit, au moyen d'une spatule de platine ou d'une petite éponge préalablement stérilisées. M. Cornet évitait naturellement de recueillir la poussière à des endroits qui eussent pu avoir été contaminés directement par les expectorations, tels que le plancher et les parties du lit placées devant la bouche des malades ; c'est généralement la paroi située derrière leur tête qui servait à l'expérience. M. Cornet l'essuyait avec l'éponge sur un espace d'environ un mètre carré, ce qui d'après ses calculs basés sur les résultats des recherches de M. v. Esmarch qui a trouvé sur les parois en moyenne 14.400 bactéries par mètre carré et sur ceux de M. Pétri qui avait trouvé 281 bactéries par mc. dans l'air des salles de l'Institut hygiénique, équivaudrait aux poussières déposées par 51 mc. d'air. En admettant d'après Vierordt que la quantité d'air inspirée par l'homme en une heure est d'à peu près 500 litres, il faudrait donc 4 jours pour faire pénétrer dans le poumon les poussières inoculées dans chaque expérience. L'inoculation de poussières entraînant assez souvent des accidents septiques, l'auteur a consacré à chaque expérience 3 cobayes. Ceux qui survivaient à l'injection étaient sacrifiés au bout de 40-50 jours, temps suffisant pour que la tuberculose apparaisse nettement, et en même temps trop court pour que les lésions puissent se

confondre avec celles qui seraient la suite d'une infection spontanée par les poumons. Dans ce dernier cas, en effet, ce sont ceux-ci qui présentent les principales modifications, tandis qu'à la suite des inoculations dans la cavité abdominale les poumons sont encore presque sains et les lésions localisées dans l'épiploon, la rate et le foie.

Les expériences de M. Cornet ont été très nombreuses. Il en a fait, en tout, 147 : 38 dans des salles d'hôpitaux habitées par des phthisiques, 11 dans des asiles d'aliénés, 5 dans des prisons, 2 dans une chambre servant à des expériences d'inhalations de matières tuberculeuses, 62 dans des chambres de malades demeurant chez eux et 29 dans d'autres endroits (salles d'opération, rues, etc.). Le nombre des animaux inoculés a été de 392 ; de ceux-ci 59 contractèrent la tuberculose, 196 succombèrent à des septicémies ou d'autres maladies et 137 restèrent indemnes. Sur des salles d'hôpitaux habitées par des phthisiques, 15 contenaient des poussières tuberculeuses, et les 62 expériences faites avec des poussières recueillies chez des malades particuliers donnèrent 21 fois un résultat positif, tandis que les poussières prises dans la rue et dans des endroits non habités par des phthisiques ne donnèrent jamais la tuberculose. Il en est de même de la poussière des prisons, tandis que dans les asiles d'aliénés la poussière se trouva, dans trois cas, être infectieuse. La poussière recueillie dans la chambre d'inhalation fut également trouvée virulente. Ces résultats montrent clairement que l'on ne trouve le virus tuberculeux que dans les endroits qui ont été habités par des phthisiques et ils sont loin d'être favorables à l'hypothèse de son ubiquité. A cet égard un des cas cités par l'auteur est particulièrement intéressant : Mlle A., actrice, malade de la poitrine, s'était établie depuis quelques semaines dans un hôtel de Berlin. La poussière recueillie derrière sa tête sur le bois de lit et sur deux portraits suspendus au-dessus de ce dernier rendit tuberculeux l'un des cobayes inoculés. Ce fait est digne d'être noté, car ici nous voyons une chambre d'hôtel, probablement saine auparavant, être infectée par le séjour d'un phthisique. Dans un autre cas, l'auteur retrouva des poussières tuberculeuses encore six semaines

après la mort du malade. D'après M. Cornet, des faits de cette nature montrent combien une source d'infection peut souvent rester cachée et il engage donc les médecins à ne pas recourir trop facilement aux termes vagues d'hérédité et de disposition individuelle pour expliquer l'apparition des symptômes de la maladie. On pourrait être étonné de voir que les résultats n'ont pas toujours été identiques dans les différentes salles d'hôpital affectées aux phthisiques. Pourquoi les poussières de quelques salles ont-elles été inoffensives tandis que les autres étaient éminemment infectieuses ? M. Cornet serait tenté de l'attribuer aux différences dans le degré de propreté des malades ; ainsi les uns emploient les crachoirs, tandis que d'autres, malgré tous les conseils, salissent leurs mouchoirs ou crachent par terre, constituant par cela autant de foyers d'infection. M. Cornet a pu particulièrement constater l'influence de ces mesures de propreté chez les malades visités à domicile. En effet, moins ceux-ci prenaient de soins de leurs personnes et de leurs expectorations, plus les poussières étaient infectieuses. Ceci amène M. Cornet à parler des moyens prophylactiques à employer contre la tuberculose. Seules les expectorations du phthisique sont une source d'infection ; l'air qu'il expire, ainsi que l'ont prouvé de récentes expériences de M. Cornet, ne renferme point de bacilles; il ne faut par conséquent prohiber que ce qui pourrait favoriser la dissémination des bacilles dans l'air; ainsi on ne leur permettra pas de cracher par terre, ni dans le mouchoir, mais on les contraindra à se servir de crachoirs ; de nombreuses expériences prouvent, en effet, que les microorganismes contenus dans des liquides ne passent pas dans l'air, et les expectorations ne deviennent dangereuses que par leur dessication et leur pulvérisation. Dans une autre série d'expériences spéciales M. Cornet a montré le danger d'infection que constitue l'emploi d'instruments mal désinfectés. En lavant dans de l'eau stérilisée des pinceaux et des laryngoscopes employés sur un sujet atteint de phthisie du larynx et en injectant après cette eau à des cobayes, il vit tous les animaux d'expériences succomber à la tuberculose. Même après un lavage dans de l'acide phénique à

5 p. 0/0 et dans le sublimé à 2 p. 0/00, la désinfection n'était pas complète.

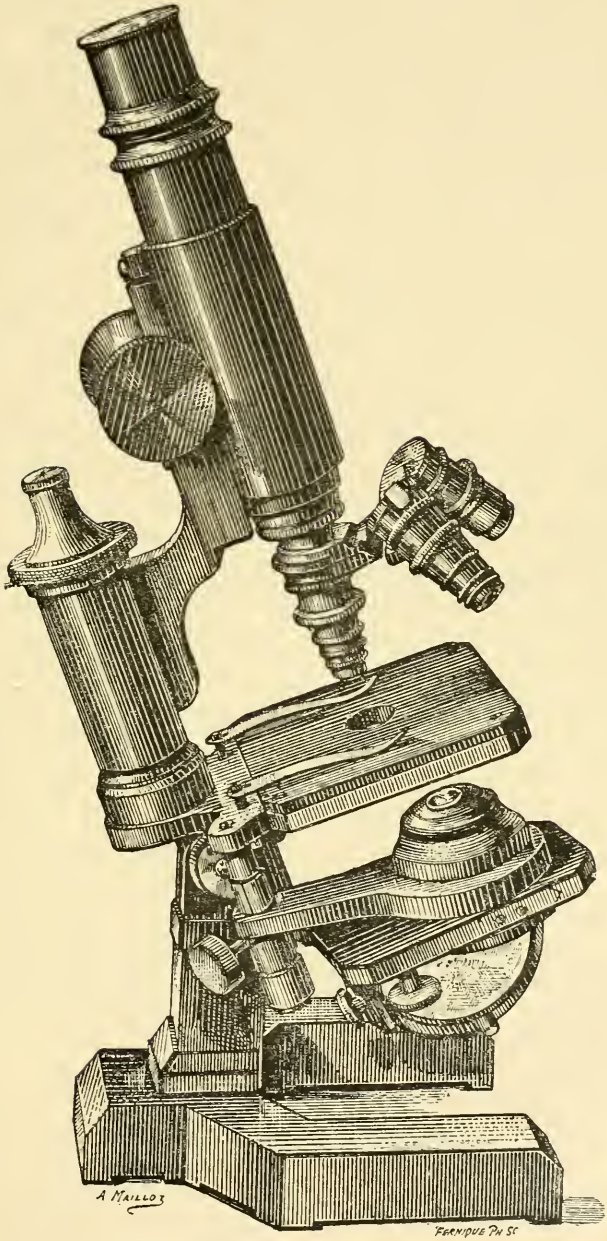
Quelques expériences enfin auxquelles servirent encore 23 cobayes, furent consacrées à l'analyse de l'air. Les poussières atmosphériques filtrées d'après la méthode de M. Petri sur du sable étaient diluées dans de l'eau stérilisée et inoculées aux animaux. Bien que les prises d'air eussent ainsi été faites dans des salles dont les poussières s'étaient montrées infectieuses, les inoculations n'amenèrent dans aucun cas d'infection tuberculeuse ; elles provoquèrent par contre assez souvent des septicémies. En multipliant ses expériences sur l'air M. Cornet fut peut-être arrivé à des résultats positifs, il n'en resterait pas moins acquis que la presque totalité des germes infectieux se trouve dans les poussières sédimentaires.

SUR UN NOUVEAU MODÈLE DE MICROSCOPE

Par FABRE DOMERGUE

Les perfectionnements apportés quotidiennement dans la construction des objectifs micrographiques ont eu comme conséquence naturelle de nécessiter une amélioration parallèle des parties mécaniques du microscope. Le mouvement rapide par glissement du tube dans sa douille tend de plus en plus à faire place au mouvement plus précis de la crémaillère. Celle-ci a donc été l'objet de soins particuliers destinés à empêcher le ballottement qui se produisait presque toujours dans les anciens instruments pourvus de cet accessoire. La vis micrométrique également destinée à agir sur des objectifs dont la puissance de pénétration s'annule presque totalement à mesure qu'augmente leur angle d'ouverture devait par le fait même offrir une précision en rapport avec la puissance de définition du système optique. En dernier lieu enfin le système condensateur, complètement négligé il y a une dizaine d'années, a pris avec les travaux d'Abbé une importance qui impose aux constructeurs certaines modifications de l'ancien modèle où le dessous de la platine était presque toujours dépourvu d'accessoires autres que le miroir et un fort diaphragme cylindrique.

Le modèle d'instrument que nous a soumis M. Dumaige répond à ces diverses conditions ; nous allons examiner successivement toutes les parties au point de vue de la précision et de la commodité qu'elles doivent présenter. Ce microscope appartient à la catégorie des instruments que l'on est convenu d'appeler *grands modèles ;* d'une hauteur totale d'environ 30 centimètres il est porté sur un pied de cuivre fourré de plomb qui en assure la stabilité dans toutes les positions. A ce pied est fixée une colonne ronde



Nouveau modèle de microscope. Dumaige.

à genouillère qui permet l'inclinaison du microscope sur son pied jusqu'à l'horizontalité. A la partie supérieure de la genouillère se trouve fixée la platine dont la face postérieure porte le système d'éclairage. Cette platine formée d'une plaque de cuivre revêtue d'une lame d'ébonite est à peu près carrée et mesure 85 m.m. de côté. Elle présente à sa partie postérieure droite un petit prolongement auquel est fixée la tige le long de laquelle se meut le condensateur. Ce petit prolongement offre à l'usage une très grande commodité; il constitue pour la main qui manie la vis micrométrique une sorte d'appui naturel et laisse aux doigts beaucoup d'aisance et de souplesse pour le maniement de cette vis.

Le porte-condensateur imaginé par M. Dumaige est fort bien compris ; il présente une épaisseur aussi réduite que possible ce qui a permis de réduire considérablement la hauteur de la platine et de rendre ainsi le travail plus commode. Monté sur une tige latérale autour de laquelle il peut tourner, il s'excentre complètement par un simple mouvement de pression et laisse libre le miroir du microscope. Le porte-condensateur se compose d'une petite douille mobile verticalement sur une tige au moyen d'un manchon à glissement ou d'une crémaillère. A cette douille est fixé par un bras horizontal portant une table rectangulaire de 45 × 75 m.m. percée d'une large ouverture. Dans l'épaisseur de cette table se trouvent logés : 1° le diaphragme-iris ; 2° le mouvement d'excentrement du diaphragme. Le diaphragme-iris est, comme l'indique son nom, un disque formé de lamelles imbriquées dont le mouvement agrandit ou rétrécit l'ouverture de ce disque. Le mouvement d'excentrement du diaphragme s'obtient par une petite molette latérale qui pousse latéralement celui-ci dans un sens ou dans l'autre.

Si nous ajoutons que par le mouvement de rotation de la tablette porte-condensateur on peut faire tourner excentriquement le diaphragme et par conséquent le faisceau lumineux autour de l'objet, nous aurons indiqué par le fait même la substitution de la rotation du porte-condensateur à celle de la platine, mouvement qui en déplaçant toute la

partie supérieure du microscope en rendait le maniement fort incommode.

Il nous reste à parler de la vis micrométrique et de la crémaillère. La vis micrométrique large, graduée en divisions dont chacune représente un déplacement vertical du tube de 0,01 millimètre offre un mouvement doux et uniforme. La crémaillère mérite d'attirer un instant l'attention. D'abord le tube du microscope s'enfonce dans une douille et peut, par le fait même être mû par glissement comme dans un modèle sans crémaillère. La douille qui porte le tube est munie d'une crémaillère à section ovoïde et à dents obliques qui, s'engageant dans un canal de forme semblable prévient ce ballottement désagréable que présentent après quelques mois d'usage les crémaillères à dents horizontales. Ce dispositif présente encore un avantage, celui de pouvoir monter autant qu'il est nécessaire le tube du microscope sans être arrêté par aucun obstacle et de pouvoir, par conséquent, y adapter un revolver porte-objectif muni de systèmes à très grande longueur focale.

Ce nouveau modèle d'instrument réalise à notre avis un des meilleurs types de microscope d'observation. Il est le résultat d'études consciencieuses et de longs tâtonnements, aussi croyons-nous devoir conseiller au constructeur de s'en tenir là et de porter ses efforts sur la réalisation des objectifs à grand angle d'ouverture pour lesquels ce modèle a été spécialement combiné.

LES APPAREILS DE MICROGRAPHIE

A L'EXPOSITION UNIVERSELLE DE 1889

III. — Maison, Bézu, Hausser et Cie, 1, rue Bonaparte

Comme l'on pouvait s'y attendre, cette maison fondée par Prazmowski, aussi savant astronome qu'habile constructeur, a exposé de beaux microscopes dont la réputation est depuis longtemps établie. D'abord elle nous montre son nouveau grand modèle de microscope achromatique, à platine tournante, à mouvement rapide à crémaillère, à mouvement lent avec une vis de rappel, etc. L'éclairage de cet instrument est surtout bien compris et bien soigné : un système Abbé, placé sur la platine jouit d'un mouvement excentrique permettant aisément d'obtenir la lumière oblique dans les cas où cela est désirable, enfin le mouvement vertical du condensateur peut se faire de haut en bas. et *vice versa* au moyen d'un levier placé latéralement à la droite du microscope. Quant aux modèles plus petits, destinés aux amateurs et aux élèves de nos Facultés, ils nous paraissent très commodes et consciencieusement exécutés.

Le modèle spécial, pour l'étude des bactéries, est particulièrement soigné; il est muni d'une platine circulaire pouvant tourner sous la main, d'un éclairage approprié pouvant venir en contact avec la face inférieure de la lamelle porte-objet, etc. Sa stabilité fort grande en fait un précieux instrument de laboratoire. Nous devons également féliciter cette maison de la bonne façon dont sont construits ses microscopes minéralogiques, grands et moyens modèles.

Les objectifs à immersion homogène de 120° (angle d'ouverture) et de 1/12 et 1/18 de pouce, placés dans la même vitrine possèdent un pouvoir définissant, très digne d'être apprécié, non seulement pour l'étude des stries des diatomées, mais pour l'étude des bactéries les plus fines, colo-

rées ou non, libres dans les cultures ou répandues dans les préparations histologiques; en somme, ces objectifs sont de tout point recommandables.

MM. Bézu, Hausser et Cie exposent aussi un appareil de photomicrographie dans la section de la photographie, il est à chambre verticale; sur une table basse repose le microscope portant la préparation, son tube s'engage dans une tablette supérieure située sur le même bâtis de fonte, et qui n'est autre que la face inférieure de la chambre noire. Le microscope placé sur la tablette inférieure est monté sur une platine mobile au moyen d'une vis de bas en haut, ce qui permet de le hausser ou de l'abaisser à volonté. Un miroir peut être interposé sur le trajet des rayons lumineux et permet de projeter l'image à photographier sur une des faces latérales de la chambre noire garnie d'une petite glace dépolie; par là, on procède à une première mise au point, qu'on perfectionne sur la glace dépolie qui doit être plus tard remplacée par la glace sensible. En somme cet appareil est bien compris, beaucoup plus stable que la plupart des instruments analogues proposés jusqu'ici ; il occupe peu de place et se prête à l'emploi du premier microscope venu.

IV. — Autres maisons françaises et étrangères

Nous pouvons citer de ce nombre la maison Dumaige, de Paris, 24, rue saint-Merri, qui présente aux visiteurs de magnifiques modèles et de beaux et bons objectifs ; la description qui vient d'être faite d'un des instruments de ce constructeur dans ce même numéro des *Annales* nous dispense de nous étendre sur la disposition et la mécanique des microscopes qui sortent de ses mains. Cette maison qui se distingue par son bien faire, a droit à nos félicitations ; quant aux encouragements qu'elle méritait, le jury les lui a accordés en lui décernant une médaille d'argent.

La maison Arthur Chevalier offre au public plusieurs modèles d'instruments que nous espérons devoir être meilleurs

que ceux que nous avons eus il y a une dizaine d'années entre nos mains et dont la partie mécanique et optique avait malheureusement beaucoup trop de rapports avec la quincaillerie mise en vente chez les marchands de lunettes.

Les microscopes étrangers ont été dignement représentés à notre exposition par les maisons Watson et Sons, Phillischer et Ross. Nous dirons peu de chose de ces appareils dont la réputation est bien établie, mais nous n'avons pu nous assurer *de visu* de la légitimité des éloges qui leur sont décernés. Ces constructeurs anglais présentent de nombreux binoculaires de toute dimension, cette forme s'acclimatera difficilement en France où l'on a surtout l'habitude de travailler d'un seul œil. Cela dit, les expositions de ces opticiens étaient fort belles, très remarquées, et le jury international ne leur a pas ménagé les hautes récompenses.

V. — Préparations microscopiques et photomicrographies

Nous apercevons d'abord la vitrine de M. Bourgogne, 34, rue Cardinal-Lemoine, contenant des préparations histologiques de tout genre, de diatomées, d'algues diverses, test objet, etc. Celle de M. Tempère, garnie de préparations difficiles, admirablement réussies et du Dr Viallanes. Citons dans la section américaine la vitrine modeste de mademoiselle Mary A. Booth de Longmeadow, Massachussetts, et les préparations annexées aux expositions des microscopes.

Les photomicrographies sont très rares, en dehors de celles du professeur Damaschino, nous n'en apercevons pas qui méritent d'être signalées.

VI. — Appareils de laboratoire

L'exposition de M. E. Cogit, 17, quai Saint-Michel, à Paris, est très riche en pièces accessoires concernant les études micrographiques. Nous y distinguons avec les

trousses à dissection et les microtomes, des lamelles, des cellules humides, des réactifs, des boîtes à préparations bien comprises, etc., en un mot les divers appareils auxiliaires immédiats du micrographe.

Les instruments usités pour l'étude des bactéries sont très largement représentés : la maison Wiesnegg de Paris vient en première ligne avec ses autoclaves perfectionnés, ses étuves de grande et de petite dimension. (étuves Pasteur, d'Arsonval, de Scribeaux), ses stérilisateurs à air chaud de M. Pasteur et de M. Chantemesse, etc. La maison Adnet vient ensuite et offre aux visiteurs des instruments bien construits. Beaucoup plus nombreux sont les articles de verrerie destinés à la culture des bactéries : les maisons Alvergniat, Fontaine, Rousseau, la Société anonyme de produits chimiques, etc., ont exposé avec quelques variantes : des matras Pasteur, des flacons Freudenreich, des appareils Miquel, des chambres humides de toutes formes, des tubes, des pipettes distributrices, des vases à cultures très variés, etc., etc. Si ces diverses maisons, d'ailleurs toutes recommandables, ont voulu démontrer qu'il existe en France des souffleurs et des verriers capables de fournir les laboratoires de bactériologie, nous pensons que ce but a été pleinement atteint.

Nous clôturerons cette revue rapide des instruments de micrographie à l'Exposition universelle de 1889 en signalant dans la section d'hygiène les appareils à désinfection de la maison Hescher, et les filtres Chamberland, les seuls, d'après nos renseignements, qui se soient montrés capables de retenir les microbes vulgaires et pathogènes.

REVUES ET ANALYSES[1]

P. Thélohan. — **Sur la constitution des spores des Myxosporidies.** (*Comptes rendus de l'Acad. des Sciences.* N. 24, 9 décembre 1889, t. CIX, p. 919.)

D'après Bütschli les spores des Myxosporidies présenteraient un noyau ovalaire ou arrondi, visible à l'état frais comme une tache claire, difficile à colorer par les réactifs; or en étudiant les Myxosporidies des branchies et de la vessie natatoire de la Tanche M. Thélohan a constaté que cette vésicule centrale considérée par Bütschli comme un noyau présente toutes les réactions de la matière glycogène et que par contre à côté de cette vésicule apparaissent sous l'action des réactifs colorants un ou plusieurs noyaux qui avaient jusqu'ici échappé à l'observation.

Dans les spores jeunes, en particulier dans celles qui sont encore contenues dans le sporolaste, le noyau est unique et le plus souvent, quoique non constamment, placé en avant de la vésicule claire. Plus tard on voit ce noyau s'étrangler et se scinder en deux, trois ou quatre masses nucléaires.

L'auteur confirme l'existence des appendices de la coque observés par M. Balbiani chez les Myxosporidies de la Tanche, mais en leur donnant une autre signification. Il a constaté la même structure nucléaire dans les spores du Gardon, de la Carpe et de la Perche.

En résumé, il résulterait des observations de M. Thélohan que l'organe pris par Bütschli pour le noyau serait une vésicule contenant de la matière amylacée et que le vrai noyau serait représenté par une ou plusieurs petites masses nucléaires situées dans le voisinage de cette vésicule.

F. D.

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

Dr Justyn Karlinski. — **Sur la manière dont se comportent quelques bactéries pathogènes dans l'eau potable** (*Archiv für Hygiene*, IX, 2, p. 113).

M. Karlinski a recherché si l'eau potable de la ville d'Innsbruck constitue un bon terrain nutritif pour les bactéries du typhus, du choléra et du charbon quand on la maintient à sa température naturelle qui, pour les sources alimentant les fontaines d'Innsbruck est de 8° environ. On verra par ces expériences que la température joue ici un rôle important ; aussi M. Karlinski arrive-t-il à des résultats assez différents de ceux obtenus par les expérimentateurs qui maintenaient l'eau inoculée avec des bactéries pathogènes à des températures plus élevées.

L'eau des sources et des conduites d'eau de la ville d'Innsbruck paraît être assez pauvre en germes ; M. Karlinski en a trouvé en moyenne une dizaine par cmc. L'auteur nous décrit les 7 espèces qu'il y a trouvées. Elles sont capables de proliférer à la température de 8°, car dans les prises d'eau maintenues à cette température on constate au bout de quelques jours une augmentation assez sensible, quoique lente, de leur nombre, mais qui est loin d'atteindre les chiffres cités par Miquel et Meade Bolton pour certains microbes de l'eau. De même, dans l'eau préalablement stérilisée, puis inoculée séparément avec ces différents microbes, on voit ceux-ci augmenter de nombre, moins cependant que dans l'eau non stérilisée, ce que l'auteur attribue aux changements apportés dans la composition de l'eau par la stérilisation.

M. Karlinski infecta alors des échantillons des diverses sources avec les bactéries pathogènes sus-nommées, et les compta chaque jour au moyen de cultures sur plaques. Le résultat fut qu'à la température employée, ces 3 bactéries pathogènes ne peuvent ni proliférer, ni même vivre dans l'eau. Tous les jours on voit leur nombre diminuer, et au bout de peu de temps on n'en retrouve plus de vivantes. Le bacille du typhus inoculé en grande quantité (les plaques faites de suite après l'inoculation accusaient 36,000 bacilles typhiques par cmc.) peut encore vivre 6 jours ; celui du choléra n'a pu vivre 72 heures dans ces conditions qu'une seule fois et même la bactéridie charbonneuse — sans spores — ne s'est guère montrée plus résistante. Le quatrième jour on ne la retrouvait plus sur les plaques et rarement encore le troisième.

Il semble donc que la basse température et la concurrence que leur font les autres bactéries de l'eau amènent leur destruction rapidement. Plus l'eau sera souillée par les détritus organiques, et c'est celle précisément qui contiendra le plus de germes pathogènes (déjections typhiques, etc.), plus aussi ce dernier facteur — la concurrence vitale — entrera en jeu, en sorte que, d'après M. Kar-

linski, qui ne paraît pas être un fervent adepte des théories modernes sur la contagion, les bactéries pathogènes n'auraient guère la chance de survivre. Pour mettre ce point mieux en évidence, M. Karlinski a encore fait quelques expériences avec une eau stagnante et une eau de canal, 100 cmc. de la première qui contenait 7,505 germes par cmc. furent infestés avec 16,000 bacilles typhiques et maintenus à 8°; le lendemain déjà, il était impossible de retrouver une seule colonie typhique, bien que l'auteur eût fait 32 plaques et réduit, par des dilutions appropriées, le nombre des colonies à 60 environ par plaque. Le résultat fut le même avec l'eau de canal qui fut infestée avec 89,000 bacilles typhiques. Le jour suivant, on n'en retrouva pas un seul, bien que l'on fît 24 plaques.

En terminant, M. Karlinski note qu'il a fréquemment rencontré dans l'eau des bactéries dont les colonies, sur la gélatine à 10 °/₀ et les tranches de pommes de terre, ressemblent, à s'y méprendre, aux colonies caractéristiques du bacille typhique. Par contre, elles liquéfient la gélatine à 7 °/₀ qui n'a pas été rendue alcaline et forment un gazon jaunâtre glycériné.

E. F.

Dr Justyn Karlinski. — **De la manière dont le bacille typhique se comporte dans l'eau des puits** (*Archiv für Hygiene*, IX, 4, p. 432).

Nous venons ici même de rendre compte des expériences de l'auteur tendant à démontrer le peu de durée de la vie des germes pathogènes maintenus dans une eau de source non stérilisée à laquelle on a conservé sa température normale (8-10°). On pouvait objecter que les conditions de ces expériences de laboratoire ne se retrouvent pas dans les circonstances de la vie réelle ; attendu que dans une source l'eau se renouvelle constamment et que le nombre des germes vulgaires qui s'y trouvent reste d'après les recherches de l'auteur à peu près constant, ce qui n'est pas le cas pour les eaux conservées dans des vases de laboratoire, dans lesquels ils pullulent bientôt et écrasent les microbes pathogènes par la concurrence vitale qu'ils leur font. Dans ces nouvelles expériences, M. Karlinski ne s'est donc pas borné à infecter des eaux de source tenues dans des vases de laboratoire, mais il a infecté un puits même de l'Institut hygiénique de Munich dont il avait précédemment soigneusement étudié la teneur en germes, avec des cultures typhiques et a procédé ensuite à des analyses bactériologiques régulières de son eau pour voir combien de temps les bacilles typhiques s'y maintiendraient vi-

vants. Le nombre des bacilles typhiques servant à infecter le puits était généralement très-considérable ; dans la première expérience, par exemple, 5 litres d'une culture de bouillon contenant 72 millions de bacilles par cmc. Quelques heures après l'infection, on procédait à l'analyse bactériologique de l'eau ; à ce moment le nombre des colonies trouvées sur les plaques était toujours encore très considérable (500.000 par cmc dans l'expérience citée). L'analyse bactériologique était répétée les jours suivants. Il en résulte que déjà au bout de 3 fois 24 heures on ne trouve plus de colonies du bacille typhique. Les résultats corroborent ceux obtenus précédemment par MM. Emmerich et Pinto. Ces expérimentateurs avaient aussi infesté un puits avec une culture typhique(1 litre de bouillon contenant 42.000.000 de germes par cmc) et n'avaient plus retrouvé le bacille typhique déjà après 72 heures, bien qu'au début de l'expérience l'eau infestée en contint 200.000 par cmc. Même des spores charbonneuses avaient, dans l'expérience de MM. Emmerich et Pinto, disparu de l'eau en 36 heures et celle-ci employée à l'alimentation de plusieurs moutons pendant 4 semaines les avaient laissés indemnes. Pour répondre à l'objection que la quantité de bacilles ajoutés à l'eau n'était pas suffisante, M. Karlinski a encore analysé des matières fécales typhiques, et constaté que leur teneur en germes ne dépassait pas en moyenne 41 colonies typhiques par cmc. Il en conclut que, même en cas d'infection d'une source par des matières fécales typhiques, le nombre des germes introduits resterait au-dessous de celui de ces expériences. Aussi l'auteur ne semble-t-il pas très partisan des théories modernes sur l'infection typhique par l'eau, et il les compare, semble-t-il, au début de son mémoire à la légende de Thucydide sur les fontaines empoisonnées qui auraient provoqué la peste d'Athènes. L'infection de l'eau par les matières typhiques favoriseraient même, selon lui, par l'apport des matières nutritives qu'elles contiennent, le développement rapide des saprophytes de l'eau et par conséquent la destruction des germes typhiques doués d'une moindre résistance. Peut-être pourrait-on dire, au contraire, que ces matières nutritives favorables au développement du bacille typhique, augmentent les chances de résistance et prolongent, par cela, la durée de l'infection de l'eau. Comment expliquer, sans cela, les cas dûment constatés où l'infection typhique a procédé d'une contamination de l'eau ? E. F.

E. di Mattei et F. Stagnitta. — **Sur la manière de se comporter des microbes pathogènes dans l'eau courante** (*Annali dell' Istitute d'igiene sperimentale*, I, 2).

A la plupart des recherches faites sur la durée de la vie dans

l'eau des bactéries pathogènes on peut reprocher de se tenir éloignées des conditions réelles, soit parce que les expérimentateurs ont employé de l'eau stérilisée, dans laquelle, par conséquent la concurrence vitale des bactéries vulgaires fait défaut, soit parce que l'eau était tenue à des températures plus élevées (température de la chambre ou de l'étuve) que ne l'est généralement celle des sources d'eau. On pourrait donc objecter aux résultats obtenus par ces expérimentateurs qu'en cas d'infection d'une source les choses se passeraient tout autrement. Pour échapper à ce reproche, M. Karlinski dont nous avons analysé les travaux dans les pages précédentes avait, dans une série d'expériences tenu les échantillons d'eau à leur température naturelle, dans une autre, pour se rapprocher autant que possible d'un cas se présentant dans la vie réelle, il avait infesté un puits même avec des cultures typhiques. On se rappelle que, dans ces conditions, les bactéries pathogènes n'avaient guère vécu plus de quelques jours.

Pour mieux étudier l'action de l'eau courante, MM. di Mattei et Stagnitta ont procédé différemment. Ils plaçaient dans un tube de verre, mis en communication par un tuyau de caoutchouc avec une conduite d'eau (source Martia de Rome), des fils de soie imbibés de cultures pures des microbes qu'ils voulaient étudier et fixés par un fil de coton à l'ouverture supérieure du tube. Après avoir ouvert le robinet de la conduite et avoir laissé couler l'eau pendant un temps déterminé, ils procédaient à des cultures sur plaque et à des inoculations avec les fils de soie. Ce dernier point avait son importance, car les microbes immergés dans l'eau auraient pu conserver leur vitalité, tout en perdant leur virulence. Dans les expériences sur le charbon, les auteurs se servirent aussi de fragments d'organes pour être sûrs d'avoir des bactéridies dépourvues de spores. En même temps ils firent, également avec des fils de soie imprégnés de cultures pures, des expériences sur l'action de l'eau stagnante. Celle-ci était recueillie dans de grands ballons d'environ deux litres et tenue à la température de l'eau courante.

Le tableau suivant résume les résultats :

Ce tableau montre deux choses : premièrement que les microbes pathogènes peuvent vivre quelques jours soit dans l'eau courante, soit dans l'eau stagnante et que leur virulence se conserve généralement pendant toute la durée de leur vie ; deuxièmement qu'ils résistent moins à l'action de l'eau courante qu'à celle de l'eau stagnante. Les auteurs sont disposés à admettre que cette différence pourrait tenir à l'action mécanique exercée par l'eau courante sur le protoplasma délicat des bactéries ; c'est croyons-nous, leur attribuer une bien grande sensibilité. Mais, quoi qu'il en soit de l'explication, le fait existe, et l'on fera bien d'en tenir compte dans la pratique.

	DURÉE MAXIMUM EN JOURS			
	EAU COURANTE		EAU STAGNANTE	
	Développement	Virulence	Développement	Virulence
Fragments d'organe charbonneux.	6	6	3	3
Fils imprégnés de bactéridiès charbonneuses. . . .	2	3	4	4
— spores de charbon. . .	120(1)	120	120	120
— bacilles typhiques. . .	4	—	13	—
— — de la morve. . . .	6	—	12	12
— — du choléra des poules	7	6	10	10
— Staph pyog aureus . .	8	7	12	12
— Streptococcus pyogenes.	5	5	8	6

De leurs expériences les auteurs tirent la conclusion, fort légitime, que les germes pathogènes conservant leur virulence dans l'eau courante pendant quelques jours, pourront former des centres d'épidémie là où dans le cours de leurs perégrinations, ils trouveront des conditions favorables d'existence. Dans les eaux stagnantes, où leur vitalité se conserve plus longtemps, ils constitueront naturellement un danger plus grand.

E. F.

Dr A. A. Pfeiffer. — **Sur la pseudotuberculose bacillaire chez les rongeurs** (Leipzig, chez E. Thieme, éditeur, 42 p. avec 6 microphotogrammes.

Plusieurs auteurs ont déjà décrit une affection microbienne des rongeurs, rappelant par ses lésions microscopiques des glandes les modifications que produit la tuberculose dans ces organes. On retrouve en particulier, dans la rate, le foie, les reins et les poumons des tubercules avec dégénérescence caséeuse. Appelée tuberculose zoogléique par MM. Malassez et Vignal, cette maladie reçut de M. Eberth le nom de pseudotuberculose. M. Pfeiffer, en inoculant à des cobayes des matières provenant d'un cheval suspect

(1) L'expérience ne fut pas prolongée au delà de ce temps.

de morve vit ses animaux d'expérience succomber à une maladie infectieuse rappelant par ses altérations microscopiques la morve expérimentale, mais différant d'elle par une évolution beaucoup plus rapide (8 à 9 jours) et par son microorganisme qu'il a pu isoler et avec lequel il put reproduire la maladie. De l'étude des lésions décrites avec soin l'auteur conclut à l'identité avec la pseudotuberculose d'Eberth et la spécificité du microbe qu'il a isolé.

Le bacille en question a des bouts arrondis et une longueur variable; il est généralement de trois à cinq fois plus long que large. Il se colore bien avec les couleurs d'aniline usuelles, surtout avec la solution de bleu de méthylène de Loeffler, mais ne supporte pas l'application du procédé de Gram. Ce microorganisme croit bien sur la gélose sur laquelle il forme un gazon grisâtre, épais dont la consistance filandreuse rappelle les cultures de morve. Il croît également bien à la température de la chambre dans la gélatine à la surface de laquelle il forme un disque épais gris-blanc, sans jamais la fluidifier. Dans les cultures sur plaques, la croissance commence dès le lendemain de l'ensemencement. Les colonies situées dans la profondeur sont presque aussi claires que de l'eau. Les colonies touchant la surface se développent plus rapidement; le second jour elles sont grisâtres et leurs bords sont nets comme ceux des colonies de l'intérieurs. En grandissant, toutefois, les bords perdent de leur régularité et deviennent sinueux. Le troisième jour les colonies de l'intérieur sont devenues un peu plus foncées et présentent un centre finement granulé. Les bords restent clairs. Dans les plaques où les colonies sont moins rapprochées (3me dilution), les colonies intérieures, sont beaucoup plus grandes. Elles perdent rapidement leur nuance claire et prennent une teinte brun-jaunâtre, et sont finement granulées. Les colonies de la surface s'étendent beaucoup, sont jaune-pâles et marbrées. Les pommes de terre ne lui conviennent guère comme milieu de culture. Lorsqu'on ensemence sur ce milieu une quantité minime de bactéries rien ne croît. Avec un ensemencement plus riche on parvient à produire une culture qui s'étend, avec le temps, sur toute la surface. Sur des tranches de viande stérilisées le bacille forme un gazon grisâtre; dans le bouillon, il produit, quand on remue les cultures une pellicule qui tombe bientôt au fond du vase. Ce bacille croît aussi dans le lait, mais sans y produire d'altérations visibles. Il ne forme pas de spores.

Une température de — 16° ne nuit pas à ce microorganisme; il est au contraire, tué par une température de 60° prolongée pendant deux heures.

E. F.

C. Luderitz. — Quelques recherches au sujet de l'action des infusions de café sur les bactéries (*Zeitschrift für Hygiene*, VII, 2 p. 241).

Les propriétés antiseptiques du café ont déjà été relevées dans quelques travaux, principalement dans un mémoire de Heim, paru en 1887, qui avait soumis à l'action d'une décoction de café des fils de soie imprégnés de cultures pures de différents microbes et cultivé ces mêmes bactéries dans des gélatines additionnées de café. Les résultats étaient assez encourageants pour justifier de nouvelles expériences que M Lüderitz, résume dans le présent travail. Voici comment il procédait. Quelques gouttes d'une culture prise dans du bouillon des microbes qu'il étudiait, étaient ajoutées à 10 cmc d'une infusion refroidie de café de concentration variable (l'infusion était préparée avec de la poudre de café fraîche et de l'eau bouillante et maintenue à 100° pendant 10 m.). Après un temps variable, il faisait des plaques et constatait s'il y avait une diminution progressive dans leur nombre. De même, ces microorganismes étaient inoculés dans des tubes de gélatine à 10-15 p. 100 additionnée d'infusion de café dans des proportions diverses, que l'on roulait en plaques d'Esmarch. En même temps on faisait une plaque de contrôle avec de la gélatine additionnée d'autant d'eau que les autres avaient reçu de décoction de café.

Voici les résultats obtenus :

1° *Bacillus prodigiosus.* — Diminution de la croissance dans la gélatine au café à 0, 6 p. 100, arrêt complet dans celle à 8 à 9 p. 100. L'infusion pure de café à 5 p. 100 le tue en 6 jours, celle à 10 p. 100 en 3 à 5 jours et celle à 20 p. 100 en 2 jours. Dans une infusion à 30 p. 100 le *Bac. prodigiosus* meurt déjà dans le courant de la première journée ;

2° *Bacille du typhus.* — Diminution de la croissance dans la gélatine au café à 0,5, arrêt complet dans la gélatine à 3 p. 100. Dans l'infusion pure à 1 p. 100, le bacille n'avait pas encore diminué de nombre au bout de 18 jours, dans celles à 5 p. 100 il meurt en 2-3 jours, dans celles à 10 p. 100 en 2 et 3 jours, dans celles à 20 p. 100 (une expérience) il était mort après 2 jours, dans celle à 30 p. 100 en 1 ou 2 jours ;

3° *Proteus vulgaris.* — Croissance diminuée dans la gélatine au café à 0,5 p. 100, arrêt total dans celle à 2,5 p. 100. Dans l'infusion pure il meurt en 2-4 jours, dans celles à 20 et 30 p. 100, pendant le premier jours ;

4° *Staphylococcus pyogenes aureus.* — Croissance diminuée dans la gélatine au café à 0,5 p. 100, arrêt total dans celle à 2 p. 100. Dans l'infusion pure à 5 p. 100, mort après 6 jours, à 10 p. 100 après 4-7 jours, à 20 p. 100 après 3 jours ;

5° *Streptococcus erysipelates.* — Croissance diminuée déjà dans la gélatine au café à 0,1 p. 100, arrêt complet dans celle à 1 p. 100. Dans l'infusion pure à 10 p. 100, les *streptscoques* furent tués 4 fois après 1 jour, dans 5 autres expériences, il y eut sur les plaques quelques rares colonies ;

6° *Bacille du choléra asiatique.* — Diminution de la croissance dans la gélatine au café à 0,05 p. 100, arrêt total dans celle à 1 p. 100. L'infusion pure à 1 p. 100 les tue déjà au bout de 7 à 8 heures, celle à 5 p. 100 en 1 h. et demie à 4 heures, celle à 30 p. 100 en une demie heure à 2 heures. Cette action remarquable du café sur le bacille cholérique nous a rappelé un mode de traitement usité en Perse, et qui consiste à faire boire au malade le plus possible de café noir très fort, en le forçant à prendre de l'exercice. Nous connaissons même une personne qui, pendant un séjour dans ce pays a été guérie d'une atteinte de choléra par ce moyen. Le résultat clinique serait donc d'accord avec les données expérimentales ;

7° *Bacille du charbon.* — Dépourvu de spores ce microorganisme s'est, de tous, montré le moins résistant à l'action du café. Sa croissance diminue déjà dans la gélatine au café à 0,1 p. 100 et cesse complètement dans celle à 0,6 p. 100. L'infusion pure à 10 p. 100 tue les bacilles en 2 et 3 heures, celle à 30 p. 100 en 2 heures. Les spores sont naturellement plus résistantes. Un séjour d'une à 2 semaines dans l'infusion de café à 10 p. 100 leur enlève cependant la faculté de se revivifier dans la gélatine. Dans du bouillon, par contre, à l'étuve, elles se développent encore. Mais une semaine plus tard, toute croissance cessa également dans le bouillon. Une infusion de café à 10 p. 100 chargée de spores ne donne pas, au bout de 33 jours, le charbon à des souris. Une infusion de 30 p. 100, chose assez singulière, n'a pas eu d'action plus marquée. Lorsque, dans ces expériences, on n'emploie pas des infusions pures, mais des infusions additionnées de bouillon, l'action nocive du café diminue beaucoup. Ainsi, par exemple, le bacille du typhus peut se maintenir vivant pendant 9 jours dans un bouillon additionné de 5 p. 100 de café ; il était, en revanche, mort au bout de ce temps dans celui chargé de 15 p. 100 de café.

M. Lüderitz a cherché à savoir quels sont les éléments du café qui possèdent ces propriétés antibactériennes. La caféine est sans action, l'acide tannique y joue peut-être un rôle, mais peu considérable. Ces propriétés résideraient plutôt, nous dit l'auteur, dans les produits empyreumatiques du café compris sous le nom de caféone. M. Lüderitz, a, en effet, pu en isoler une partie par distillation, dans laquelle il a retrouvé une action antiseptique caractérisée.

E. F.

Dr Karl Menge. — **Sur le lait rouge** *(Centralbl. für Bakteriologie u. Parasitenkundte*, VI, p. 596).

L'auteur décrit un nouveau microorganisme qu'il a réussi à isoler d'un lait coloré en rouge et qui, inoculé à l'état de pureté dans du lait stérilisé lui donne la même coloration rouge. L'organisme décrit rentre dans la catégorie des sarcines, mais c'est dans le bouillon surtout que ce caractère est accusé. Dans les autres milieux nutritifs, par contre, il a l'apparence d'un gros micrococcus en groupes de 2 à 4 individus.

Sur les plaques de gélatine on voit au bout de 48 heures de toutes petites colonies transparentes parfaitement rondes et homogènes, à bords lisses et dont la nuance est incolore ou faiblement jaunâtre. Quand les colonies sont très-nombreuses, elles ne grandissent pas, ne se colorent pas en rouge et ne liquéfient pas la gélatine. Lorsque les colonies sont moins nombreuses et qu'elles ne se gênent pas mutuellement dans leur développement elles prennent un aspect granuleux et produisent un pigment rouge quand elles parviennent à la surface. Les bords deviennent irréguliers .et la gélatine se liquéfie lentement. Dans les cultures par piqûre, il y a développement tout le long de celle-ci, mais le pigment ne se forme qu'à la surface sous la forme d'un voile rose à bords irréguliers. La liquéfaction est lente et incomplète. Il ne se forme au début qu'un petit entonnoir, qui met environ 10 semaines pour envahir la moitié du tube. A l'abri de l'air le développement est nul. Sur gélose, cette sarcine produit un gazon blanc au début qui se colore en rose à partir du 3e jour. A l'étuve cependant la coloration ne se produit pas et le développement reste très lent. Le bouillon reste limpide, mais il se forme au fond du vase des dépôts blancs filiformes, qui ne prennent une couleur un peu rosée qu'au bout d'un temps assez long. Cet organisme croît mal sur les pommes de terre acides, mais très bien sur celles que l'on a rendues alcalines.

La stérilisation leur donne malheureusement une teinte brunâtre souvent très prononcée qui fait du tort à la couleur rouge que la sarcine y forme en quantité abondante déjà le 3e jour. Le lait stérilisé, inoculé avec ce microbe prend peu à peu une teinte rouge intense, mais ne subit pas d'autres altérations appréciables. La crème qui surnage au-dessus de la culture est traversée par des stries rouges, le sérum qui se trouve au-dessous se teinte en rouge et au fond se voient des amas de bactéries d'un rouge vif. Dans le lait non stérilisé, au contraire, les autres microorganismes prennent le dessus et empêchent le développement de la sarcine et la production de sa matière colorante. M. Menge n'a pas réussi à déterminer la nature de cette dernière qui est restée insen-

sible à l'action de tous les réactifs chimiques employés. Cet organisme n'est pas doué de propriétés pathogènes ainsi que pouvait le faire prévoir sa croissance à peu près nulle à l'étuve. E. F.

E di Mattei. — **Sur l'immunité artificielle provoquée par des substances médicamenteuses** (*Annali dell' Istituo d'igiene sperimentale*, I, 2, p. 5).

Nous avons déjà parlé des expériences de M. Cornet sur l'action des antiseptiques sur les bacilles de la tuberculose dans l'organisme animal (I. p 536). Dans le présent mémoire, M. di Mattei résume les résultats d'un certain nombre d'expériences analogues. L'auteur a étudié l'action de deux médicaments, le phosphore et l'arsenic, en les incorporant pendant des temps variables par la voie hypodermique sous forme d'huile phosphorée et d'acide arsénieux à des animaux auxquels il inoculait plus tard le charbon ou la tuberculose. Après l'inoculation, les injections médicamenteuses étaient encore continuées. Dans aucun cas, malheureusement, le résultat ne vint confirmer l'attente de l'expérimentateur. Tous les animaux, quand ils ne succombaient pas déjà à une intoxication médicamenteuse, contractaient le charbon ou la tuberculose. On se rappelle que les tentatives de M. Cornet n'avaient pas donné de meilleurs résultats. E. F.

Dr R. Pfeiffer et Dr Nocht. — **Sur la manière dont se comporte le vibrion cholérique dans le corps du pigeon** (*Zeitschrift für Hygiene*, VII, 2, p. 59).

On se rappelle que M. Gamaléia avait annoncé, il y a quelques mois, qu'en faisant passer le bacille du choléra par le cobaye, on le rend pathogène pour le pigeon dans le sang duquel il pullulerait. Après quelques passages par l'organisme de ce dernier animal, M. Gamaléia aurait vu sa virulence augmenter au point qu'une ou deux gouttes de sang suffisaient pour tuer un pigeon frais en 8 à 10 heures. M. Gamaléia avait, en outre, réussi à vacciner les pigeons contre ce choléra de virulence renforcée, en leur inoculant des cultures cholériques ordinaires dans le muscle pectoral ou dans le cavité péritonéale. MM. Pfeiffer et Nocht ont repris ces expériences, mais les résultats qu'ils ont obtenus ne leur permettent pas de confirmer ceux de M. Gamaléia. Ils ont réussi, il est vrai, à infecter des pigeons, mais seulement en leur inoculant dans la cavité pectorale ou péritonéale, des doses considérables (5 cmc) de cultures cholériques provenant de cobayes infectés, et, dans ce cas, ils ont constaté le passage de quelques bacilles dans le sang. Ils n'ont cependant

jamais pu obtenir une augmentation de la virulence par le passage de pigeon à pigeon et n'ont jamais non plus réussi à en tuer par l'inoculation du sang ou du suc des organes des pigeons morts à la suite des injections de cultures cholériques. N'ayant pas obtenu d'augmentation de la virulence, ils n'ont, par conséquent, pas non plus pu contrôler les vaccinations pratiquées par le savant russe.

E. F.

Jhon Reimers. — Sur la teneur en germes du sol (*Zeitschrift für Hygiene,* VII, 2, p. 307).

La littérature microbienne contemporaine compte déjà un nombre respectable de recherches quantitatives sur le nombre des bactéries qu'héberge le sol. Citons, parmi les principaux travaux, ceux de Miquel, Koch, Maggiora, Adametz, Baumer, Fränkel, etc. A ces recherches importantes on peut ajouter aujourd'hui celles de M. Reimers, intéressantes à plus d'un titre. La méthode dont s'est servi cet expérimentateur est celle, bien connue, des plaques de gélatine. Il y a cependant introduit une modification qui lui a donné de bons résultats. Au lieu de diluer la terre dans de l'eau et d'ensemencer avec celle-ci les plaques ou d'agiter simplement la terre dans la gélatine avec un fil de platine, M. Reimers la broie dans un mortier stérilisé contenant la gélatine et verse ensuite celle-ci dans des tubes stérilisés dont il fait des plaques selon le système d'Esmarch. On pourrait croire que les chances d'infection fortuite sont nombreuses avec ce procédé, mais d'après M. Reimers il n'en est rien, car dans des expériences de contrôle faites avec de la terre stérile, il ne se développait la plupart du temps, rien dans ces tubes. Il serait trop long de relater le détail des expériences de l'auteur, aussi nous bornerons-nous à transcrire ici ses conclusions.

1°. Les nombre de germes dans les couches supérieures n'est pas aussi élevé que l'ont prétendu quelques expérimentateurs. Dans le sol examiné par l'auteur (à Iena) il ne dépasse guère quelques millions par centimètre cube ;

2° Jusqu'à une certaine profondeur, le nombre des germes reste relativement élevé, mais moins qu'à la surface ;

3° A une certaine profondeur leur nombre s'abaisse subitement et considérablement, ainsi que cela a déjà été constaté par M. Fränkel ;

4° La zone de cette décroissance subite se trouve dans le sol d'Iena, comme dans celui de Berlin, entre 1 et 2 mètres ;

5° La situation plus ou moins élevée ou basse de cette zone paraît dépendre surtout de la façon dont le terrain est travaillé et employé. Dans un sol déjà remué elle est située plus profondément que dans un terrain vierge ;

6° A une très petite profondeur (2 mètres) le sol peut déjà être pur de germes;

7° Les mêmes espèces de germes prises à la surface ou immédiatement au dessous croissent plus vite sur les plaques, que quand elles proviennent des couches plus profondes;

8° Ce ralentissement de la croissance que l'on constate à mesure que la profondeur augmente, prouve que les conditions d'existence sont moins favorables aux bactéries dans les couches profondes qu'à la surface;

9° La nappe d'eau souterraine examinée à une profondeur modérée s'est montrée tantôt pure de germes, tantôt contaminée;

10° Dans un certain nombre de cas la nappe d'eau souterraine n'exerce aucune influence sur la décroissance du nombre des germes; dans d'autres cas les couches humectées par cette nappe d'eau se sont montrées plus riches en germes que les couches situées plus haut;

11° Les inhumations semblent n'exercer aucune influence notable sur le nombre des germes du sol. A côté des cercueils et sous ceux-ci le nombre des microbes ne s'est pas montré plus élevé que celui trouvé au même niveau dans des fosses de contrôle creusées dans le même terrain;

12° Le résultat est le même qu'il s'agisse d'une tombe ayant servi à une inhumation il y a trente-cinq ans, ou d'une tombe datant d'un an et demi.

Ces dernières conclusions, jointes aux résultats obtenus par M. von Esmarch concernant le sort des microorganismes pathogènes dans le cadavre (v. ces *Annales*, II, p. 37), permettraient donc d'affirmer l'innocuité des cimetières. E. F.

Dr H. Buchner. — **Sur les prétendues spores du bacille typhique** (*Centralbl. für Bacteriologie und Parasitenkunde*, IV, p. 353).

Depuis les recherches de Gaffky sur le bacille typhique, on a généralement admis que celui-ci forme de véritables spores endogènes. On voit, en effet, surtout dans les cultures sur pomme de terre tenues à 37°, des granulations brillantes aux extrémités des bacilles, que l'on a cru pouvoir assimiler à des spores, d'autant plus que l'on rencontre dans les préparations colorées des espaces incolores également situés aux extrémités des bâtonnets; or, l'un des caractères principaux des spores des bactéries est de ne se colorer que très difficilement. Dans son travail, M. Buchner montre que l'on a confondu à tort les granulations brillantes des préparations fraîches et non colorées avec les espaces incolores des préparations colorées. Pour s'en convaincre, il suffit de colorer

une préparation fraîche sous le microscope en faisant couler une petite quantité d'une solution aqueuse de violet de gentiane sous la lamelle. On voit alors que les granulations polaires, dont il a été question, se colorent les premières; elles sont déjà d'un violet intense, alors que le reste du bâtonnet est encore presque incolore. Ce dernier se colore cependant davantage peu à peu, mais se rétracte en même temps et produit généralement aux deux bouts du bacille la vacuole prise pour une spore dans les préparations colorées. Dans quelques préparations, on distingue nettement le contour convexe du protoplasme ; la forme concave de la vacuole montre alors clairement qu'il ne peut s'agir d'une spore. En outre, les granulations polaires suivent le protoplasme dans sa retraite, en sorte que l'on peut voir quelquefois la vacuole à côté de la granulation fortement colorée. Il est à remarquer que ceci ne s'observe que dans les préparations faites comme M. Buchner l'indique ; en colorant d'après la méthode ordinaire les préparations sèches, les granulations disparaissent dans le reste du protoplasme, qui se colore avec une égale intensité.

Les vacuoles ou espaces incolores sont ainsi hors de cause. Restent les granulations polaires. Mais celles - ci se colorent, comme il a été dit, plus facilement encore que le reste du bacille, ce que ne font pas les spores ; de plus, elles ne germent pas, ainsi que M. Buchner s'en est assuré en les suivant sous le microscope ; enfin, elles résistent moins longtemps à la dessication que les bacilles qui n'en contiennent pas ; ces derniers peuvent, en effet, être desséchés pendant 20 minutes à 68° ou pendant 3/4 d'heure à 50°, sans rien perdre de leur vitalité, tandis que des cultures sur pommes de terre, composées de bacilles à granulations polaires sont tuées en 5 minutes quand on les dessèche à 60° sur des lamelles de verre. Pour ces motifs, M. Buchner conclut que les prétendues spores du bacille typhique sont tout autre chose. Selon lui, les granulations polaires prises pour des spores seraient dues à un épaississement du protoplasme — de là, leur coloration intense dans les préparations colorées. — provoqué par une dégénérescence du bacille. En effet, ainsi que M. Buchner le prouve, les granulations qui se montrent dans les cultures sur pommes de terre, sont causées par la réaction acide de ce milieu de culture, car, dès qu'on neutralise les tranches de pommes de terre, en les plongeant avant de les stériliser dans une solution alcaline de soude, le bacille typhique croît avec abondance et ne forme point de ces granulations. Sur la pomme de terre alcaline, la culture typhique perd également son aspect typique et devient d'un brun-jaune intense. C'est là un fait intéressant et digne d'être noté au point de vue du diagnostic des cultures typhiques. En cultivant le bacille typhique sur gélose

glycérinée, à l'abri de l'oxygène, on provoque également, en 3 jours, la formation des granulations, ce qui semble, comme le pense M. Buchner, parler en faveur de l'hypothèse d'une forme dégénérative.

La question soulevée par M. Buchner est non seulement fort intéressante, au point de vue de la morphologie, mais elle est encore d'une grande importance pour l'étiologie du typhus, car il est clair que les conclusions que l'on avait tirées, au sujet de la propagation de cette maladie, de l'existence des spores du bacille typhique, perdent toute valeur du moment où celle-ci est révoquée en doute. E. F.

M. Cadéac. — **Contribution à l'étude de la pleuropneumonie contagieuse du cheval** (*Journal de médecine vétérinaire et de zootechnie*, 3e série, XIX, p. 291).

Plusieurs auteurs (Schütz, Rust, Perroncito, Lustig, etc.) ont déjà trouvé des bactéries qu'ils ont considérées comme les agents de la pleuropneumonie contagieuse du cheval, mais sans que la question de l'étiologie de cette maladie semble jusqu'ici avoir été résolue d'une manière définitive.

Dans son travail, M. Cadéac commence par résumer nettement les différences qui séparent la pleuropneumonie infectieuse de la fièvre typhoïde du cheval, avec laquelle elle a souvent été confondue. Il nous décrit ensuite le microbe recueilli par lui et M. Pécus dans la sérosité pleurale et pulmonaire des chevaux malades et qui consiste en un micrococque rond, libre ou disposé en diplocoques, plus rarement en chaînettes. Il est dépourvu de capsule, ce qui le différencie du pneumocoque de l'homme. Ce microbe se cultive lentement à 35-37°, et trouble les bouillons au fond desquels il forme un dépôt blanchâtre pulvérulent. Sur gélose, les cultures font une tache blanchâtre, d'aspect huileuse, comparable à une tache de bougie. Ce microbe est aérobie. En l'inoculant dans le poumon des solipèdes, l'auteur a reproduit les lésions de la pleuropneumonie, ce qui semble établir définitivement le caractère spécifique de cette bactérie. En même temps, il a essayé sa virulence sur d'autres animaux et a constaté qu'il est pathogène pour les lapins et les cobayes. L'auteur étudie ensuite soigneusement l'action de différents agents sur ce microbe. Une température de 60-61° tue le virus. La dessication à 35-37° ne diminue pas son activité; par contre, il ne supporte guère plus de 15 jours une dessication lente à la température ambiante. Il résiste à la putréfaction pendant 12-15 jours et peut-être au delà. Parmi les antiseptiques, le plus énergique a été, comme d'habitude, le sublimé. L'acide phénique, même, à 5 $^0/_0$, ne le tue qu'après 3 à 4 jours, le sul-

fate de cuivre à 1/200 après 7 jours. L'action des essences a aussi été étudiée. Parmi celles-ci, l'essence de cannelle s'est montré douée d'un pouvoir désinfectant égal à celui du sublimé. Après 10 minutes de contact, les germes étaient tués. E. F.

Prof. Dr J. Uffelmann. — **Sur la durée de la vitalité des bacilles du typhus et du choléra dans les matières fécales** (*Centralbl. für Bakteriol. u. Parasitenk*, V, p. 497 et 529).

Comme M. Kitasato, dont nous avons dernièrement analysé le mémoire, M. Uffelmann a recherché combien de temps les bacilles du typhus et du choléra peuvent vivre dans les matières fécales. Pour cela, il mélangeait des cultures de ces microorganismes avec des matières fécales d'âges divers, tantôt seules, tantôt mêlées avec de l'urine, les tenait à différentes températures, et employait ces mélanges à faire de temps à autre, des cultures sur plaques, dans lesquelles le nombre des cultures spécifiques montrait s'il y avait eu accroissement, diminution ou extinction des germes en question Nous ne pouvons ici entrer dans le détail des nombreuses expériences que l'auteur a faites, et nous devons nous borner à en exposer les résultats généraux.

En ce qui concerne le bacille typhique, il résulte que celui-ci est doué d'un degré considérable de résistance à l'égard des matières fécales. Il peut y conserver sa vitalité pendant 4 mois et probablement même beaucoup plus longtemps, car, à ce moment, les germes étaient encore nombreux. Sa vitalité n'a, toutefois, pas été la même dans chaque expérience. La température, en particulier, semble ici jouer un rôle important, car, à 10°, ils résistent généralement beaucoup moins longtemps qu'à 17° et diminuent rapidement. L'âge des matières fécales, par contre, semble indifférent. L'urine n'a pas non plus paru exercer d'action nocive. Cependant, comme M. Kitasato a constaté que le bacille typhique ne se développe pas quand il y a abondance de carbonate d'ammonium, il serait possible que l'adjonction d'une forte quantité d'urine modifie défavorablement le terrain. Les bacilles de la terre ne paraissent pas non plus gêner le bacille typhique, car dans une expérience où de la terre de jardin avait été ajoutée au mélange, le bacille typhique s'y retrouva encore après 5 mois 1/2, et même, en plus grand nombre qu'au début. Cette résistance du bacille typhique expliquerait bien selon M. Uffelmann, différents cas qu'il a pu observer dans la pratique, et dans lesquels des latrines contaminées par des déjections typhiques ont pu devenir des foyers d'infection encore plusieurs mois plus tard.

Le bacille du choléra, au contraire, s'est montré beaucoup moins résistant, de même que dans les expériences de M. Kitasato.

La durée la plus longue que M. Uffelmann ait pu observer dans ces conditions était de 4 jours ; mais, en général, ce microorganisme, mis en contact avec les matières fécales, périt déjà au bout de 2 à 3 jours. Il reste vivant, en revanche, pendant les premières 24 heures. E. F.

Dr Monti. — **Contribution à l'étude de la méningite cérébro-spinale** (*Riforma medica*, mars 1889).

Différents microorganismes ont déjà été trouvés dans la méningite cérébro-spinale : le méningococcus de MM. Fraenkel et Weichselbaum, identique à celui de MM. Foa et Bardoni, un diplococcus trouvé par MM. Weichselbaum et Goldschmit, un bacille rencontré dans un cas par MM. Neumann et Schäfer, et un microorganisme décrit par M. Bonome et fort semblable au premier. Il en est de cette maladie comme de la pneumonie ou des pyémies qui, elles aussi, paraissent pouvoir être causées par des agents divers M. Monti a étudié 4 cas de méningite, et dans les 4 il a retrouvé le méningococcus de Fraenkel ; dans 3 cas, il était seul : dans le 4e, il se trouvait en compagnie du *Staphyl. pyo. aureus*. Ceci engagea l'auteur à étudier l'effet de l'inoculation simultanée de ces deux microorganismes. Il inocula donc le meningococcus sous la dure-mère de quelques chiens (l'auteur avait eu l'occasion de constater que le méningococcus inoculé détermine chez cet animal une méningite cérébro-spinale) et fit suivre cette opération d'une injection intraveineuse de staphylococcus. Dans un seul cas où l'injection avait été faite 24 heures après l'inoculation du méningococcus, M. Monti retrouva le staphylococcus dans l'exsudat des méninges. L'auteur conclut de ses expériences :

1° Que dans les cas de méningite cérébro-spinale, étudiés par lui à Pavie, le microorganisme lancéolé à capsule de Foà et Bordoni-Uffreduzzi (Fraenkel-Weichselbaum) a constamment été présent ;

2° Qu'à la série des microorganismes trouvés dans cette maladie il faut ajouter le *Staphyl. pyo. aureus*. Les expériences faites sur les chiens sembleraient démontrer que la présence de cet agent pyogène dans les méninges est dû à une infection secondaire survenant quand le processus méningitique a déjà commencé, et provenant peut-être des poumons, dans lesquels, ainsi que M. Monti l'a vu, on trouve fréquemment le *Staphylococcus pyog. aureus* réuni au méningococcus ;

3° Ainsi qu'il résulte des recherches spéciales faites par l'auteur, sur ce point, il y a des cas de pneumonie fibrineuse, non accompagnés de méningite, dans lesquels on trouve un microorganisme lancéolé à capsule qui ne se distingue en rien de celui qui produit quelquefois, à lui seul, la méningite cérébro-spinale. E. F.

BIBLIOGRAPHIE

Louis-Marx. — **Le laboratoire du brasseur.** 3e édition, un vol. in-8 de 421 pages, avec 93 fig. 1889. — Chez l'auteur, brasserie Champion à Xertigny (Vosges).

Cet ouvrage dont l'une des éditions précédentes avait été couronnée (prix des arts chimiques) vient d'être soigneusement refondue et augmentée par son auteur, qui a su acquérir en matière de brasserie une réputation et une compétence que les fabricants de bière intelligents lui reconnaissent depuis longtemps. C'est en s'inspirant des travaux de M. Pasteur et de M. Hansen l'un de ses maîtres, que M. L. Marx a écrit son livre. Dans la partie micrographique de ce traité, on peut apprécier combien l'auteur a su mettre à profit les leçons qu'il a été puiser dans le laboratoire de Carlsberg. Il ne nous appartient pas d'analyser les sections de ce travail relatives à la fabrication proprement dite de la bière, qui outre le choix des matières premières, exige une technique toute spéciale plus tôt industrielle que scientifique; la partie étendue ayant trait à l'analyse chimique ne doit pas nous occuper davantage, mais nous ne saurions manquer de signaler les chapitres consacrés aux saccharomyces agents de la fermentation du mouts et aux microbes qui peuvent communiquer à la bière fabriquée plusieurs maladies qui lui ôtent sa saveur agréable et ravalent sa valeur marchande. Rarement un sujet aussi difficile avait été exposé avec tant de science et de lucidité. M. Marx nous décrit d'abord les levures, celles qui entrent habituellement dans la fabrication de la bière, et celles qui ont reçu le nom de sauvages. Il nous enseigne à les séparer les unes des autres d'après les procédés de MM. Pasteur et Hansen. Plus loin, à préparer en grande quantité des levures de choix afin de pouvoir dans les opérations de brasserie obtenir sans hésitation une bière d'une qualité supérieure, ce qui autrefois n'était pas possible, quand le levain du brasseur était souillé de microbes nuisibles aux liqueurs mises à fermenter; grâce aux belles découvertes de Hansen, ces questions jadis cantonnées dans les laboratoires ont acquis une importance industrielle capitale ; on peut préparer aujourd'hui dans les brasseries les bonnes levures en quantité quelconque, et diriger à

son gré les opérations délicates de l'alcoolisation des mouts, laissées antérieurement, je le répète, aux hasards d'une pratique très habile on n'en peut disconvenir, mais aveugle. L'hygiène des mouts est l'objet de longues considérations de la part de M. Marx, dans lesquelles nous ne pouvons entrer. Malgré les 100 pages que ce savant praticien consacre aux saccharomyces, nous pensons qu'il y aurait un grand intérêt à réunir dans un volume spécial l'histoire de toutes les levures, ce travail serait peut-être actuellement très laborieux. Mais M. Marx, nous le savons, possède entre ses mains des documents précieux sur les levures qui se développent pendant la vinification, sur celles qui sont nuisibles à la qualité du vin obtenu, sur celles qui au contraire lui communiquent un bouquet délicat et recherché. Nous n'ignorons pas non plus que ses travaux sur la stérilisation préalable des raisins sont fort avancés. Il lui sera donc facile de faire suivre son ouvrage si instructif: *Le laboratoire du brasseur*, d'un livre non moins utile, sur le rôle de toutes les levures dans la fermentation des jus sucrés. En attendant, il est peu de micrographes qui hésiteront à se procurer le volume que nous venons de signaler, il mérite d'être lu, étudié et médité avec la plus grande attention.

Dr M.

PUBLICATIONS RÉCENTES

BACTÉRIOLOGIE

D. Loiseau. — Sur la fermentation de la raffinose, en présence des diverses espèces de levures (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CIX, p. 611).

Costantin. — Sur les variations des *Alternaria* et des *Cladosporium* (*Revue générale de botanique*, t. I).

G. Roux et Linossier. — Sur la mycose expérimentale due au champignon du muguet (*Lyon médical*, 1889).

E. Laurent. — Recherches sur la valeur comparée des nitrates et des sels ammoniacaux comme aliments de la levure de bière et de quelques autres plantes (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 362.)

N. Tchistovitch. — Des phénomènes de phagocytose dans les poumons (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 337).

Lucet. — Sur une nouvelle septicémie du lapin (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 413).

Duclaux. — Sur la nutrition intracellulaire (2e mémoire) (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 413).

G. Heinich. — Sur les propriétés antiseptiques de l'hydroxylamine, (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 438).

Hoegyes. — Vaccination contre la rage, avant et après infection (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 449).

J. Krassilstchik. — Sur les bactéries biophytes, note sur la symbiose des pucerons avec les bactéries (*Annales de l'Institut Pasteur* t. III, p. 465).

Gueit. — Note sur la recherche du bacille de la tuberculose dans les crachats (*Archives de médecine navale*, sept. 1889).

V. Galippe. — Microbes de la carie dentaire (*Journal des connaissances médicales*, octobre 1889).

H. Hankin. — Immunity provund by an albuminose isolated frover anthrax cultures. Immunité conférée par une substance albuminoïde extraite d'une culture charbonneuse (*British medical Journal*, octobre 1889).

Bonardi. — Schizomiceti nel sangue di due leucemici. Schizomycètes dans le sang de deux leucocythémiques (*Riv. gener. ital. di clin. med.*, 25 juin 89).

Chavanis — Résistance des germes de la scarlatine (*Loire médicale*, juillet 89).

Adenot. — Recherches bactériologiques sur un cas de méningite microbienne (*Arch. de méd. exp. et d'anat. pathologique*, septembre 1889).

Fausto e Leone Sestini. — Sulla fermentazione ammoniacale dell'acido urico. Sur la fermentation ammoniacale de l'acide urique (*Le Stazioni sperimentali agrarie italiane*, vol. XVII, 1889).

Ch. Bouchard. — Rôle et mécanisme de la lésion locale dans les maladies infectieuses (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CIX, p. 689).

Charrin et Roger. — Action du sérum des animaux malades ou vaccinés sur les microbes pathogènes (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CIX, p. 710).

Domingos Freire. — Statistique d'inoculations préventives contre la fièvre jaune (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CIX, p. 715).

W. Vignal. — Étude biologique d'une bactériacée, le *Mesentericus vulgatus* (*Thèse de la Faculté des Sciences de Paris*, 1889).

Dr Kurlow. — Ueber die Bedeutung der Milz im Kampfe mit den ins Blut eingedrungenen Mikroorganismen. Sur le rôle de la rate dans la lutte contre les microorganismes ayant pénétré dans le sang (*Archiv für Hygiene*, IX, 4, p. 451).

Dr H. van Geuns. — Ueber das Pasteurisiren von Bacterien. Ein Beitrag zur Biologie der Mikroorganismen. Sur la pasteurisation des bactéries. Contribution à la biologie des microorganismes (*Archiv für Hygiene*, IX, 4, p. 369).

Dr Frenkmann. — Die Färbung der Geisseln von Spirillen und Bacillen. La coloration des flagellar des spirilles et bacilles (*Centralbl. f. Bacteriol.*, VI, p. 433).

D. Scheibenzuber. — Ein Bacillus mit brauner Verfärbung der Gelatine. Sur un bacille colorant la gélatine en brun (Tirage à part de l'*Allgmeiner Wiener med. Zeitung*, 1889).

Rosenfeld. — Ein neuer Bacillus in Kommaform. Un nouveau bacille en forme de virgule (*Breslaner ärztliche Zeitschrift*, 1889 n° 9).

Latis, M. R. — Sulla transmissione del carbonchio dalla madre al feto. Sur la transmission du charbon de la mère au fœtus (*Riforma medica*, 1889, n° 141).

Zagari G. — Ricerche etiologiche sul rinoscleroma. Recherches étiologiques sur le rhinosclérôme (*Giornale internaz. delle scienze mediche*, 1886, n° 4).

Th. Kitt. — Bakteriologische und pathologische Uebungen für Thierärzte u. Studirende der Thierheilkunde. Exercices bactériologiques et pathologiques pour les vétérinaires et les étudiants en médecine vétérinaire. Vienne (*Moritz Perles*, 1889).

Dr O. Lubarsch. — Ueber die bakterienvernichtenden Eigenschaften des Blutes und ihre Beziehungen zur Immunität. Sur les propriétés destructives du sang à l'égard des bactéries et leurs rapports avec l'immunité (*Centralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenk.*, VI, 18/19, p. 482).

Dr Hermann Rohrbeck. — Zur Lossung der Desinfektionsfrage mit Wasserdampf. Contribution à la solution de la question de la désinfection par la vapeur d'eau (*Centralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenk.*, VI, 18/19, p. 493).

L'Editeur-Gérant,
Georges CARRÉ.

Tours, imp. DESLIS FRÈRES, 6, rue Gambetta.

ANNALES

DE MICROGRAPHIE

CONTRIBUTIONS A L'ÉTUDE DES MYXOSPORIDIES

PAR

P. THÉLOHAN (1)

Les Myxosporidies sont des organismes consistant essentiellement en une masse de protoplasma dans laquelle se forment à un moment donné des corps reproducteurs ou spores.

Deux caractères principaux les distinguent des autres Sporozoaires : ce sont d'une part la complexité de structure à laquelle peuvent atteindre leurs spores et d'autre part ce fait remarquable sur lequel Bütschli a attiré l'attention, que la formation de ces spores ne marque point le terme du cycle évolutif de l'organisme mais commence de très bonne heure et se continue pendant le développement de celui-ci.

Les Myxosporidies, comme tous les Sporozoaires, sont des parasites ; on en a signalé dans un certain nombre d'animaux. Leuckart et Lieberkühn en ont trouvé dans les reins et la vessie urinaire des Grenouilles, Lutz dans la vésicule biliaire des Batraciens du Brésil, en particulier du *Bufo Agua*.

Parmi les Invertébrés, Lieberkühn en a décrit dans la *Naïs proboscidea* et M. Balbiani (2) dans la chenille de la *Pyralis viridiana*.

Mais les Poissons constituent leurs hôtes de prédilection,

(1) Travail du Laboratoire d'Embryogénie comparée du Collège de France.
(2) *Journal d'anat. et phys.*, t. III et IV.

leur habitat typique, à tel point qu'on les désigne souvent sous le nom de Psorospermies des Poissons.

C'est en effet pour ces parasites que le nom de Psorospermies a été créé par J. Müller (1), en 1841.

Déjà Gluge (2), en 1838, avait découvert une forme à très petites spores que l'on trouve souvent dans la peau de l'Epinoche (*fig. 4*), mais, il s'était complètement mépris sur leur nature.

Müller lui-même ne connaissait que les spores ; mais, plus heureux que Gluge, il avait observé des spores de taille relativement grande et à structure complexe.

C'est à elles seules que s'appliquait le terme de Psorospermies, qui rappelait à la fois leur forme et la lésion qu'elles déterminaient chez leur hôte.

Il les trouva d'abord dans des petits kystes des muscles de l'œil chez le brochet où elles ont en effet une forme qui rappelle un peu celle des spermatozoïdes. Il en rencontra plus tard chez un grand nombre de poissons.

Il décrivit leurs formes extérieures et vit qu'elles renfermaient deux vésicules ovalaires situées à l'un des pôles et une petite masse de matière transparente ; il les considérait comme des organismes particuliers et leur attribuait une reproduction par génération endogène au moyen des capsules polaires.

C'est à Dujardin (3) que revient l'honneur de la découverte de la masse plasmique où se forment ces spores des Myxosporidies. Ses observations furent confirmées par Leydig et Lieberkühn (4) et ce dernier observa la germination des spores, c'est-à-dire la séparation des deux valves de l'enveloppe et la sortie du plasma sous forme d'une petite masse amiboïde.

En 1863, M. Balbiani (5) communiqua à l'Académie des Sciences des observations détaillées, relatives surtout à la distribution du parasite dans les organes et à la constitu-

(1) *Muller's Archiv.*, 1841, p. 477.
(2) *Bulletin de l'Ac. des Sc. de Belgique*, t. V, 1838.
(3) *Hist. nat. des Helminthes.* — Appendice.
(4) *Archiv. fur Anat. und Phys.*, 1854.
(5) *Sur l'organis. et la nature des Psorosp. Ctes rend. de l'Ac. des Sc.*, t. LVII, 1863.

tion des spores. Il découvrit que les capsules polaires ne sont pas de simples vésicules, mais renferment un filament enroulé en spirale qu'il vit se dérouler et sortir par une petite ouverture de l'enveloppe sous l'influence de certains réactifs et en particulier de la potasse.

M. Balbiani a signalé aussi des petits globules réfringents que l'on trouve dans la spore disséminés sans ordre et en nombre variable ; dans les spores d'une Myxosporidie de la Tanche il décrivit en outre des filaments enroulés autour de la ligne de suture des deux valves et susceptibles de se dérouler.

Enfin il a observé (1) la germination de la spore et suivi le développement ultérieur de la petite masse amiboïde qui en était sortie.

Gabriel (2), en 1879, étudia les Myxosporidies de la vessie urinaire du Brochet dont il a suivi le développement des spores. Déjà Lieberkühn avait décrit des mouvements amiboïdes dans les masses plasmiques des psorospermies des Plagiostomes. Gabriel les a niés dans celles du Brochet ; mais Bütschli les a constatés depuis. Ce dernier auteur dans un mémoire publié en 1881 (3) a étudié la structure de ces masses plasmiques et des kystes des branchies des Cyprinoïdes ; de plus il a signalé l'existence d'un noyau dans la petite masse de protaplasma que renferment les spores.

L'état actuel de nos connaissances sur ce sujet se trouve exposé avec l'autorité qui s'attache au nom de ces auteurs dans les *Leçons sur les Sporozoaires* de M. Balbiani et le chapitre relatif aux *Sporozoaires des Protozoa* de Bütschli (4).

En 1889 enfin ont paru un mémoire de H. Ludwig sur les Myxosporidies du Barbeau que je ne connais que par l'analyse qu'en a donnée le *Centralblatt* (5) et qui ne renferme aucun fait nouveau relatif à la structure de nos orga-

---

(1) Balbiani, *Leçons sur les Sporozoaires*, 1884.
(2) *Bericht des schles.* Gesellsch, 1879.
(3) *Zeitschriftf. Wiss Zool.*, 1881.
(4) *Bronn's Thier-Reich I. Bd. Protozoa.*
(5) *Centralblatt für Bakt. und Paras*, septembre 1889.

nismes et une note de Lutz (1) sur les Myxosporidies de la vésicule biliaire des Batraciens du Brésil.

Mes observations relativement au développement des spores et des masses plasmiques étant encore trop incomplètes pour que je puisse en faire figurer ici les résultats, j'ai passé sous silence dans ce rapide exposé l'histoire de nos connaissances sur ce sujet; elle trouvera plus naturellement sa place dans un travail ultérieur si, comme je l'espère, les études que je poursuis me permettent d'établir sur ce point quelques faits dignes d'intérêt.

Ce travail aura seulement pour objet les masses plasmiques et la structure des spores.

Avant d'exposer les résultats de mes recherches, qu'il me soit permis d'exprimer à M. le professeur Balbiani dans le laboratoire duquel elles ont été faites, ma profonde gratitude pour l'extrême bienveillance avec laquelle il m'a prodigué ses conseils et ses encouragements.

Les procédés de la technique moderne ont déjà été appliqués avec fruit par M. Henneguy à l'étude des Sporozoaires. Je me suis conformé aux indications qu'il donne dans ses mémoires sur la sporulation de la Grégarine du Lombric (2) et sur la Sarcosporidie du *Palœmon rectirostris* (3); il m'a de plus guidé lui-même dans l'emploi de ces méthodes avec une obligeance dont je suis heureux de pouvoir lui exprimer ici toute ma gratitude.

Les liquides fixateurs qui m'ont donné les meilleurs résultats sont le liquide de Perenyi et le liquide de Flemming.

Les coupes pratiquées après inclusion dans la paraffine sont collées sur le porte-objet au moyen de l'albumine de Mayer, puis lavées au xylol et à l'alcool absolu. On peut alors les soumettre à divers procédés de coloration. Les meilleures préparations m'ont été données par la safranine ou par le carmin boraté alcoolique ou le picro-carmin suivis de coloration par le violet d'Ehrlich suivant la méthode de Gram et Bizzozero.

Pour les spores observées après dilacération, on obtient

---

(1) *Centralblatt fur Bakt. und Par.*, 12 janvier 1889.
(2) *Annales de Micrographie*, t. I, 1888.
(3) *Centenaire de la Société philomathique*, 1888.

encore de bons résultats avec l'acide osmique et le vert de méthyle.

Dans les travaux qui ont paru jusqu'ici sur les Myxosporidies, les auteurs se bornent à désigner les différentes formes d'après l'organe et le poisson où ils les ont trouvées ; il en résulte une confusion qui n'est pas sans présenter de graves inconvénients. Dans le *Thier-Reich de Bronn*, Bütschli a désigné sous le nom de *Myxobolus Müllerï* une Myxosporidie qu'il a observée sur les branchies des Cyprins et il a donné le nom *Myxidium Lieberkühnii* à celle de la vessie urinaire du Brochet ; mais il ne donne point les caractères de ces espèces et dans le texte il se sert toujours de leur habitat pour les désigner.

Pour ma part, malgré les inconvénients indéniables qu'il présente, je me conformerai ici à ce dernier système. Nos connaissances relatives à ces organismes sont encore, je crois, trop incomplètes et trop peu précises pour pouvoir fournir les bases d'une classification de quelque valeur. Une tentative de ce genre ne pourra être légitime et fructueuse que quand des notions exactes sur leur structure et leur évolution tout entière nous permettront de nous rendre compte des affinités et des différences que les diverses formes peuvent présenter entre elles.

On sait depuis les travaux de M. Balbiani qu'à peu près tous les organes des Poissons peuvent être envahis par nos parasites. On les a en effet rencontrés partout sauf dans le tissu musculaire et le tissu nerveux. Je n'en ai non plus jamais rencontré dans le testicule et je ne sache pas qu'on les y ait jamais observés, fait d'autant plus digne de remarque que l'ovaire est au contraire un des organes où on en trouve le plus souvent.

Les Myxosporidies peuvent se présenter sous deux états différents : sous forme de masses amiboïdes libres et mobiles, ou sous forme de kystes plus ou moins volumineux. Ces conditions d'existence différentes ne sont point d'ailleurs l'apanage de formes distinctes et particulières mais bien le résultat d'une sorte d'adaptation. La forme libre se trouve en effet dans les cavités naturelles (vessie urinaire, tubes du rein) ou dans les tissus des organes profonds (foie, rate, ovaire) ; toutes les fois en un mot que la profondeur de l'or-

gane envahi et son éloignement de la surface du corps et du milieu extérieur constituent pour le parasite une protection suffisante. Au contraire, dans le tissu conjonctif sous-cutané ou sous-épithélial des branchies, on le trouve sous forme d'une masse enkystée plus ou moins régulière et de volume variable.

La même forme de Myxosporidie peut se présenter sous ces deux états suivant les organes qu'elle a envahis. Dans la Tanche, par exemple, on trouve souvent les deux dispositions. La figure 2 représente l'état libre dans le tissu conjonctif de la vessie natatoire, la figure 3 un fragment d'un kyste de la branchie ; dans les deux cas, les spores présentent absolument les mêmes caractères (*fig.* 12-16.)

Les masses plasmiques que l'on rencontre dans la vessie urinaire du Brochet ont été soigneusement décrites par Bütschli : je n'ai que peu étudié cette forme et le peu que j'en ai vu ne fait que confirmer ses observations sans me permettre d'y rien ajouter. Cet auteur distingue deux parties dans la constitution de ces masses, une partie périphérique ou ectosarc et une partie interne ou endosarc. La première se distingue par sa transparence plus grande, les granulations du plasma y sont plus fines et elle ne contient jamais de noyaux.

Dans la vessie urinaire du Brochet, dont elles tapissent la surface interne, les Myxosporidies n'ont point de disposition fixe : elles s'étalent contre la paroi en affectant une grande variété de formes susceptibles d'ailleurs de changer d'un moment à l'autre, grâce aux mouvements amiboïdes qu'elles présentent.

Mais elles ne jouissent pas partout d'autant de liberté et semblent s'accommoder parfaitement de gîtes moins spacieux.

On en trouve très souvent dans les tubes du rein : M. Balbiani en a signalé dans le rein de la Lotte, j'en ai trouvé également dans celui du Goujon, de l'Épinoche et de l'Épinochette. Dans ces deux derniers poissons elles sont particulièrement abondantes et on y trouve les mêmes formes.

L'organe est souvent envahi presque tout entier. Sur les coupes on voit la lumière de presque tous les tubes obstruée complètement par la matière psorospermique (*fig.* 1). Le

canalicule envahi est dilaté et atteint des proportions relativement énormes : le rein tout entier est par suite augmenté de volume et son fonctionnement doit évidemment être à peu près complètement aboli.

Dans le rein de l'Epinoche ou de l'Epinochette, on trouve deux formes de Myxosporidies caractérisées par la forme des spores.

Dans l'une (*fig.* 1, *sp*) les spores sont fusiformes et munies d'un prolongement caudal, comme celles que l'on a signalées chez le Brochet et chez la Perche. Leur longueur est de 24 à 30 μ, celle de la partie renflée ou du corps de la spore étant égale à celle de la queue.

L'autre forme présente des spores arrondies, à peu près sphériques mesurant 9 à 12 μ de diamètre. Au niveau de la suture les valves présentent un rebord par lequel elles s'accolent : l'espèce de bourrelet ainsi formé se termine en pointe aux deux pôles de la spore (*fig.* 1, *s*).

Non seulement on trouve souvent ces deux formes dans le même rein mais il arrive souvent qu'on les trouve côte à côte dans le même tube (*fig.* 1). Il serait intéressant de retrouver les limites des deux corps plasmiques qui donnent naissance à ces spores et de voir jusqu'où va leur mélange : malheureusement je n'ai pu arriver à aucun résultat de ce côté.

Dans ces tubes du rein, la distinction entre l'ectosarc et l'endosarc est en général peu nette. Cependant on trouve souvent, à la limite interne des cellules épithéliales, une zone de protoplasma plus transparent et plus finement granuleux qui ne contient pas de noyaux ; en dedans se trouve une zone répondant à l'entoplasma et qui renferme des noyaux. Il n'est pas rare de trouver au milieu du tube un espace vide, occupé seulement par des spores libres ; cette disposition rappelle ce que l'on observe dans les kystes.

Un fait remarquable de cet envahissement des canalicules rénaux par les Myxosporidies est le peu de désordres qu'elles y amènent. Outre la dilatation du tube, on observe seulement un peu d'augmentation de volume des noyaux de l'épithélium. Les cellules sont d'ailleurs respectées et je n'ai jamais vu le protoplasma de la Myxosporidie les envahir ou s'insinuer entre elles.

Cela tient sans doute à la facilité avec laquelle le tube rénal se laisse dilater pendant le lent accroissement du parasite et à ce fait que la lumière du canalicule constitue devant celui-ci un chemin tout ouvert dans lequel il s'engage sans avoir à vaincre presque aucune résistance.

Les Myxosporidies ne se bornent pas toujours à occuper des cavités déjà existantes. Même sous leur forme libre, on peut les trouver au sein des organes, particulièrement dans le tissu conjonctif qu'elles semblent envahir de préférence.

Dans le rein de la Tanche, par exemple, j'en ai observé dans le tissu conjonctif alors que les tubes étaient indemnes.

Dans l'ovaire, on en rencontre très fréquemment. M. Balbiani les a étudiées dans l'ovaire du Barbeau et il a vu que la matière psorospermique ne se borne pas à cheminer au travers du tissu conjonctif mais envahit souvent les jeunes ovules.

Dans l'ovaire de l'Epinochette j'ai retrouvé les deux formes que j'ai signalées dans le rein.

Sur les coupes de cet organe on voit le tissu conjonctif envahi par des masses plasmiques qui écartent ses faisceaux : certains ovules, envahis, ont complètement perdu leur aspect normal et présentent à leur intérieur des îlots de matière psorospermique plus ou moins confluents. Dans le plasma du parasite, on voit de nombreux noyaux, et çà et là de petits corps arrondis qui renferment un grand nombre de noyaux et une ou deux spores à divers états de développement (*fig.* 18). L'ovaire de l'Epinoche comme celui de l'Epinochette est fréquemment envahi par les Myxosporidies et au moment du frai, il n'est pas rare de voir la ponte normale remplacée par l'expulsion d'une petite masse de matière gluante et visqueuse dans laquelle le microscope fait aisément reconnaître de la matière psorospermique avec de nombreuses spores et quelques œufs avortés et envahis eux-mêmes par le parasite.

Le foie et la rate (M. Balbiani, chez la Tanche) sont aussi des lieux d'élection pour les Myxosporidies.

Mais l'organe où peut-être on peut le mieux se rendre compte de la manière d'être de ces organismes au sein des

tissus et de la puissance de l'effort que ces masses plasmiques si molles sont capables de produire, c'est la vessie natatoire de la Tanche. M. Balbiani est, je crois, le premier à avoir signalé ce siège des Myxosporidies. Je les y ai retrouvées sous deux états : tantôt sous une forme assez analogue à ce qu'on observe dans la vessie urinaire du Brochet, c'est-à-dire de petites masses libres tapissant la surface interne de l'organe, tantôt sous forme de traînées au milieu du tissu. Ces deux états sont le plus souvent combinés et le second n'est, je crois, que la continuation du premier.

En effet, quand le parasite est peu développé, on reconnaît seulement sa présence à de petites taches opaques que présente la vessie natatoire examinée par transparence, et, après l'avoir ouverte, on trouve ces taches constituées par la Myxosporidie qui tapisse la face interne de l'organe.

D'autres fois, on observe à la surface de celui-ci de petites saillies blanchâtres qui présentent tous les intermédiaires jusqu'à ces grosses masses mamelonnées qui ont été décrites par M. Balbiani et qui peuvent atteindre près d'un centimètre d'épaisseur.

Si on examine des coupes de ces différents états, on trouve dans le premier cas la Myxosporidie simplement accolée à l'épithélium ; mais bientôt celui-ci est dissocié et on voit des traînées plasmiques s'insinuer entre les fibres du tissu conjonctif : sur des coupes en série, on peut ainsi assister pour ainsi dire à la marche du parasite et suivre ses progrès au sein du tissu.

Celui-ci se laisse d'abord distendre et ses faisceaux s'écartent peu à peu, la marche du plasma étant évidemment très lente. Mais bientôt, sous la pression continuelle que produit l'accroissement sur certains points de la masse envahissante, les fibres arrivent à la limite de leur élasticité et finissent par se rompre.

Il se forme ainsi des sortes de loges irrégulières plus ou moins considérables au milieu desquelles on retrouve des débris du tissu de l'organe englobés dans la Myxosporidie. Pendant ce temps il s'est formé des spores : dans la figure 2, par exemple, celles-ci existent à peu près seules, et on ne trouve plus que des restes insignifiants du protoplasma.

Sur d'autres points de la même coupe, on observe au contraire le processus à ses débuts et sur une série de préparations on peut, comme je l'ai dit, suivre la marche du parasite qui s'étend ainsi progressivement au moyen de traînées plasmiques auxquelles succèdent des amas de spores.

Dans la vessie natatoire de la Tanche, comme dans le rein de l'Epinoche, la distinction est bien peu nette entre la périphérie et la partie interne du protoplasma et en dehors de l'absence de noyaux dans la partie externe il est difficile de trouver des caractères permettant de reconnaître un ectoplasme et un endoplasme.

Passons maintenant à l'étude des kyste des Myxosporidies ; on les trouve surtout dans le tissu conjonctif sous-cutané ou sous-épithélial des branchies. On en rencontre aussi dans le tissu conjonctif qui réunit les faisceaux musculaires : Müller les trouva d'abord dans les muscles de l'œil du Brochet : j'en ai moi-même observé entre les faisceaux des muscles de la paroi du corps chez le *Cottus scorpio*.

Avant d'étudier la structure histologique de ces kystes, disons quelques mots de leur apparence extérieure et de leurs caractères macroscopiques.

Ils se présentent en général sous forme de petites tumeurs de couleur blanche, faisant une saillie plus ou moins considérable ; quelquefois à peine visibles à l'œil nu, ils peuvent atteindre le volume d'un pois, d'une noisette, ou même davantage.

Leur disposition sur les branchies des Cyprins d'eau douce a été étudiée avec soin par Bütschli ; le savant professeur d'Heidelberg a parfaitement exposé leurs rapports avec le filament branchial et les vaisseaux sanguins.

J'en ai observé sur les branchies de la Tanche (*fig.* 3), de la Perche, du Brochet, de la Carpe et du Goujon ; chez ce dernier, ils sont surtout communs sur les nageoires où ils présentent souvent des dimensions peu considérables mais où ils existent en très grand nombre dans le tissu conjonctif sous-cutané.

Chez l'Epinoche et l'Epinochette, ces kystes sous-cutanés sont également communs. On en trouve du volume

d'un pois et quelquefois une dizaine sur le même individu, auquel ils donnent un aspect monstrueux dû aux saillies relativement considérables que forment ces kystes et aux déformations qu'ils peuvent déterminer. Ces déformations sont quelquefois poussées très loin et altèrent complètement la symétrie du corps; dans certains cas les muscles latéraux sont comprimés et atrophiés et les viscères eux-mêmes sont refoulés et ne présentent plus ni leur situation ni leurs rapports normaux.

Chez le *Gobius albus*, où M. Henneguy a signalé en 1888 des kystes sous-cutanés de Myxosporidies et dont il a bien voulu me communiquer des exemplaires, j'ai retrouvé ces déformations plus accentuées encore que chez l'Epinoche; les caractères du parasite sont d'ailleurs identiques.

En général ces kystes semblent bien supportés par les Poissons : quelquefois, cependant en raison de leur siège, ils peuvent provoquer des troubles mortels : c'est ainsi que chez une Epinoche, j'ai vu des kystes développés sur les copules branchiales en arriver par leur développement à comprimer le cœur et par suite amener rapidement la mort.

H. Ludwig a vu sur les Barbeaux de la Moselle les kystes se rompre et donner lieu à des sortes d'ulcères profonds, cratériformes et contenant une matière jaunâtre ressemblant à du pus.

Chez l'Epinoche, j'ai observé les faits suivants. Les kystes sont d'abord placés dans le tissu conjonctif sous-cutané et leur couleur peut être alors plus ou moins masquée par la pigmentation des téguments. Mais par les progrès du développement, ils font une saillie plus considérable : la peau est distendue, le derme s'atrophie et la tumeur devenue sous-épidermique présente une blancheur qui tranche sur la coloration générale du poisson. Bientôt l'épiderme se rompt et le kyste finit par tomber au fond de l'eau où sa membrane ne tarde pas à se rompre.

Sur les branchies de la Tanche j'ai de même observé des kystes devenus libres par rupture de l'épithélium.

La membrane d'enveloppe de ces kystes est-elle une production du parasite ou dérive-t-elle des tissus de l'hôte?

Bütschli n'est pas très affirmatif mais semble pencher pour la seconde hypothèse.

Pour moi, je crois devoir, à l'exemple de M. Balbiani, donner la préférence à la première et considérer l'enveloppe du kyste comme lui appartenant en propre, sans nier toutefois que dans certains cas, le tissu conjonctif ne puisse produire autour de la masse parasitaire une sorte de membrane comme le fait s'observe très souvent autour des corps étrangers qui pénètrent dans les tissus.

Cette membrane d'enveloppe est en général bien développée dans les kystes de l'Epinoche, et sur les coupes on la retrouve très nettement. La figure 4 représente une portion d'une de ces coupes, après coloration par le carmin boraté et le violet de gentiane. On voit en *a* le tissu conjonctif renfermant de nombreux noyaux; en *b* se trouve la membrane d'enveloppe ; à de forts grossissements elle présente une apparence fibrillaire, les fibrilles étant dirigées parallèlement à la surface du kyste.

Cette membrane est peu épaisse : 5 μ en moyenne.

Bütschli a signalé des noyaux dans l'enveloppe des kystes. Je n'ai jamais pu en trouver la moindre trace et mes observations viennent à l'appui de celles de M. Balbiani qui n'en a jamais observé non plus.

En dedans de l'enveloppe, on voit le protoplasma finement granuleux de la Myxosporidie (*c*) et des spores (*sp*) qui ont fortement retenu le violet; sur des kystes moins avancés on observe une zone intermédiaire renfermant des noyaux comme dans la figure 3. Le centre du kyste est occupé par les spores les plus âgées.

Comme l'a observé Bütschli, on ne peut déduire de la grosseur d'un kyste la phase évolutive où il se trouve rendu : dans de très petits exemplaires, on ne trouve que des spores mûres, le processus de formation de ces corps reproducteurs semble terminé, le protoplasma a presque complètement disparu et ne renferme plus de noyaux (*fig.* 4.) A côté on voit de gros kystes renfermant de nombreux noyaux et des spores en voie de formation.

Dans les kystes des branchies de la Tanche, j'ai retrouvé sur les coupes la membrane d'enveloppe avec les mêmes caractères, de même chez le Goujon dans les kystes sous-cutanés des nageoires.

Nulle part, en employant les plus forts grossissements

et les matières colorantes qui ont les plus puissantes affinités pour la matière nucléaire, je n'ai pu constater la présence d'un seul noyau dans cette partie du kyste.

Cette absence de noyaux me semble un argument de réelle valeur en faveur de l'origine parasitaire de la membrane. Dans les Myxosporidies du Brochet où le plasma est différencié en ectosarc et endosarc, l'absence de noyaux ne constitue-t-elle pas un des caractères les plus importants de la zone externe ?

Si, au contraire, cette membrane avait une origine conjonctive, n'y devrait-on pas retrouver les cellules de ce tissu avec leurs noyaux, qui justement, dans les parties qui avoisinent le kyste et qui subissent un certain degré d'irritation, sont augmentés de nombre et de volume ?

D'un autre côté, on ne voit pas pourquoi sous la peau ou sous l'épithélium de la branchie, le tissu conjonctif forcerait pour ainsi dire le parasite à prendre une forme déterminée, en lui opposant une barrière et l'immobiliserait en l'entourant d'une membrane, alors que ce même tissu, dans les organes internes laisse la Myxosporidie errer en liberté et envoyer de tous côtés ses prolongements.

Enfin une preuve convaincante, que ces organismes peuvent s'enkyster par eux-mêmes et s'entourer d'une membrane propre nous est fournie par l'observation de Lutz (1) qui a trouvé dans la vésicule biliaire de certains Batraciens une forme de Myxosporidie très intéressante. Elle se présente sous forme de petits kystes libres dans le liquide de la vésicule ; ils ont la forme d'une lentille biconvexe et sont entourés d'une membrane très nette, transparente et anhiste.

Il faut distinguer dans les Myxosporidies deux types de spores ; les unes de petite taille, toujours ovoïdes, et dépourvues de capsules polaires ; ce sont elles que Gluge a découvertes chez l'Épinoche et elles n'ont guère été étudiées depuis.

Les autres, dont les auteurs se sont surtout occupés, se distinguent par leur taille plus considérable, les formes diverses qu'elles présentent et la présence de capsules.

---

(1) *Centralblatt für Backt. und paras.*, 12 janvier 1889.

Nous avons vu que les travaux de J. Müller, de Lieberkühn et de M. Balbiani nous ont appris qu'elles se composent d'une enveloppe renfermant les capsules polaires et une petite masse de protoplasma dans laquelle Bütschli a signalé en 1881 la présence d'un noyau.

L'enveloppe est transparente, présente quelquefois de légères stries et est composée d'une substance remarquable, comme l'a établi M. Balbiani, par sa résistance aux réactifs.

Bütschli, cependant, a réussi à la dissoudre par l'ébullition dans l'acide sulfurique. Mes observations sur cette partie de la spore n'ont fait que confirmer celles de ces deux auteurs. Cependant j'ai observé que sous l'influence de la safranine, cette enveloppe prend souvent une coloration d'un jaune orangé qui rappelle celle que prend dans les mêmes circonstances la substance fondamentale du cartilage : cette comparaison ne s'étend bien entendu qu'à la coloration et je n'ai aucunement l'idée de baser sur ce fait un rapprochement quelconque entre les deux substances.

Cette enveloppe est, comme on le sait, formée de deux valves accolées par une espèce de bourrelet de leur bord libre. Elle peut affecter diverses formes ; souvent ovalaire avec une différence plus ou moins tranchée entre les deux extrémités (*fig.* 8-16) la spore peut être à peu près sphérique, les bourrelets par lesquels se soudent les deux valves se terminant en pointe à chacun des pôles (*fig.* 1, *s*). D'autres présentent un prolongement qui les fait ressembler grossièrement à un spermatozoïde (*fig.* 1, *sp.* ; *fig.* 5, 6, 7). Ce prolongement est formé par des appendices des valves qui quelquefois ne se superposent pas exactement et lui donnent une figure bifurquée ; comme l'avait très bien vu Müller, la cavité de la spore ne se continue jamais dans cette partie caudale.

L'enveloppe présente une fine ouverture en rapport avec les capsules polaires et qui sert à la sortie du filament qu'elles renferment.

Ces capsules (*fig.* 5 à 16, *c.*) sont piriformes et placées le plus souvent à l'une des extrémités de la spore, d'où leur nom de capsules polaires ; dans la Myxosporidie de la vessie urinaire du Brochet (*Myxidium Lieberkühnii*,

Bütschli) les spores sont fusiformes et présentent une capsule à chacune de leurs extrémités.

Leurs dimensions sont assez variables.

Dans des spores provenant de kystes des branchies de la Perche, elles m'ont présenté 7 ou 8 μ de longueur (*fig.* 5 à 7). Dans la forme représentée dans les figures 12 à 16 et qui vit sur la Tanche, leur longueur est de 4 μ en moyenne. Dans d'autres Cyprinoïdes (Goujon, Carpe) j'ai trouvé une forme très voisine mais à capsules plus grandes : 6 μ environ (*fig.* 8, 10).

Ces capsules renferment un filament enroulé en spirale qu'on peut souvent distinguer à l'état frais et qu'on voit bien aussi après coloration des spores par la safranine. Ce filament a été découvert en 1863 par M. Balbiani qui a constaté que sous l'influence de certains réactifs, particulièrement de la potasse, il se déroulait et venait sortir par la petite ouverture de l'enveloppe dont j'ai parlé. Ce fait a été confirmé par tous les auteurs qui ont étudié ces organismes et je l'ai moi-même observé maintes fois. Aux moyens indiqués jusqu'ici pour provoquer l'issue du filament (potasse, acides, glycérine, etc.) j'ajouterai l'action de l'eau bouillante qui réussit admirablement.

Comme Bütschli j'ai constaté que la sortie du filament se fait spontanément dans les spores conservées un certain temps dans l'eau.

J'ai réussi aussi à le faire sortir au moyen des réactifs dans des spores desséchées et conservées depuis plusieurs années que M. Balbiani a bien voulu mettre à ma disposition.

Au contraire après l'action de l'alcool sur les spores, le filament demeure dans la capsule et il devient impossible de le faire sortir.

Ces organes semblent formés de la même substance que l'enveloppe : ils présentent la même résistance aux actions chimiques et prennent la même coloration par la safranine. M. Balbiani avait comparé ces organes à des Anthérozoïdes : Bütschli, après avoir sévèrement jugé cette idée, les compare à des organes urticants. J'avoue que malgré l'imposante autorité de son auteur, cette interprétation me semble bien hasardée.

D'abord comme l'a fait observer M. Balbiani, on ne voit pas quels pourraient être ici le rôle et l'utilité d'organes urticants. De plus les filaments des capsules polaires ne ressemblent guère à ceux des véritables nématocystes ; après leur sortie, ils présentent le plus souvent un aspect sinueux, quelquefois nettement spiralé qui est loin de rappeler l'apparence des filaments urticants qui font saillie brusquement hors de leurs capsules et se présentent sous forme de bâtonnets rigides.

En somme la nature et le rôle de ces éléments ne nous sont point connus et leur comparaison avec ceux d'autres organismes ne pourra être faite que quand de nouvelles observations nous les auront mieux fait connaître.

En arrière de ces capsules se trouve une petite masse d'un protoplasma transparent, très finement granuleux qui remplit le reste de la spore et présente ordinairement à sa partie antérieure une forme sinueuse en rapport avec les capsules (*fig.* 8, *p.*)

En 1881 Bütschli a signalé dans ce plasma l'existence d'un noyau apparaissant à l'état frais comme une tache claire, ovalaire ou arrondie et qu'il avoue d'ailleurs n'avoir réussi à colorer que rarement et d'une façon peu satisfaisante. En cherchant à retrouver ce noyau au moyen des méthodes actuelles j'ai observé des faits qui me semblent établir que le savant professeur d'Heidelberg s'est mépris sur la véritable nature de l'élément qu'il signale dans le contenu plasmique de la spore qui d'ailleurs m'est apparu avec une structure bien plus complexe que celle qu'on lui attribuait jusqu'ici.

Si, en effet, on traite ces spores par différents réactifs, on acquiert bientôt la certitude que la tache claire observée par Bütschli, et décrite et figurée par lui comme un noyau, est en réalité une formation d'ordre tout différent. Peu visible à l'état frais, à cause de la transparence du protoplasma, elle apparaît plus nettement par l'action de l'alcool, des acides acétique, azotique, osmique ou du nitrate d'argent à 2 p. 100. On la voit alors entourée par le reste de la masse plasmique, qui, coagulée sous l'influence de ces liquides, se distingue par son aspect finement granuleux et sa moindre réfringence.

Elle a tous les caractères d'une vacuole creusée au sein de cette masse et remplie d'une substance particulière, remarquable par sa résistance aux réactifs colorants caractéristiques de la substance nucléaire.

Si on traite les spores par la safranine ou le vert de méthyle de manière à avoir une surcoloration, suivant la méthode employée pour les couleurs d'aniline, on les voit complètement colorées par le réactif; chaque spore apparaît comme une petite masse verte ou rouge avec un espace central incolore et en enlevant l'excès de matière colorante on s'aperçoit que cet espace clair qui est resté rebelle à l'action du réactif est justement la partie de la masse plasmique que Bütschli considère comme un noyau.

L'hématoxyline, les différents carmins, n'ont pas plus d'action sur le contenu de cette vacuole.

Seul l'iode se fixe sur elle, et, tandis que, sous son influence, le reste de la spore prend une coloration d'un jaune pâle, on voit cette vésicule devenir d'un rouge brunâtre qui rappelle absolument la teinte que prend la matière glycogène par l'action de ce réactif. Comme celle-ci, cette substance est insoluble dans l'alcool et garde sa réaction vis-à-vis de l'iode dans les spores conservées dans ce liquide. Comme elle encore, elle est soluble dans les alcalis. Les acides la modifient, et après leur action elle ne se colore plus. Toutefois, je n'ai pu, dans ces circonstances, obtenir la réduction de la liqueur cupro-potassique.

Cette action de l'iode n'avait point échappé à Bütschli, qui l'indique comme un moyen de faire apparaître plus nettement la vésicule qu'il prenait pour un noyau ; en présence de ce fait, il est étonnant que l'éminent micrographe ait attribué l'insuccès de ses essais de coloration à l'imperméabilité de la coque qui laisse pénétrer l'iode, et non à la nature même de l'élément qu'il signale.

J'ai retrouvé cette vacuole dans les spores de Myxosporidies de la Tanche, du Goujon, de la Carpe, de la Perche et du rein de l'Epinoche et de l'Epinochette.

Si les matières colorantes ordinaires du noyau n'ont aucune action sur cette partie de la masse plasmique, en revanche, elles y font apparaître d'autres éléments qui n'ont encore été signalés par aucun observateur et qui se

rapportent, sans aucun doute, au véritable noyau de la spore.

Prenons par exemple des spores de Myxosporidies de la vessie natatoire ou des branchies de la Tanche.

Ces spores mesurent environ 12 μ dans leur grand diamètre et 5 à 6 μ de diamètre transversal. A la partie antérieure se trouvent 2 capsules polaires présentant environ 4 μ de longueur.

Sur des préparations (coupes ou kystes dilacérés et fixés) traitées par le carmin boraté ou le picro-carmin et le violet d'Ehrlich, on voit les spores sous l'aspect représenté dans les figures 12-16.

Les capsules ont fortement retenu le violet : de même l'ouverture de la coque apparaît comme une petite tache violette : la suture apparaît en violet clair. A la partie postérieure on voit le protoplasma très finement granuleux coloré en rose pâle; au centre la vacuole incolore et dans le protoplasma un nombre variable de noyaux.

Dans certaines spores, et en particulier dans celles qui, non complètement développées, sont encore renfermées dans les sporoblastes, on voit un noyau unique, qui n'a pas de place absolument fixe, mais qui, cependant, est le plus souvent situé en avant de la vésicule centrale. Celle-ci existe déjà dans le sporoblaste et reste toujours absolument incolore. Dans d'autres spores, on voit ce noyau prendre une forme allongée, puis présenter un étranglement, et l'on trouve tous les intermédiaires jusqu'à deux noyaux bien distincts et séparés (*fig.* 12 et 13, *n*).

Ces noyaux se divisent à leur tour et l'on a des spores avec trois (*fig.* 14 et 15) et finalement 4 noyaux (*fig.* 16), nombre qui n'est jamais dépassé. Ces quatre noyaux sont le plus souvent disposés symétriquement, deux en avant et deux en arrière de la vacuole centrale.

Dans la Carpe et le Goujon j'ai observé une forme que je crois être le *Myxobolus Müllerі* de Bütschli (*fig.* 8). Les spores mesurent en moyenne 12 μ sur 8 μ. Elles se distinguent à première vue de celles de la Tanche par la taille plus grande des capsules polaires (6 μ) et leur forme plus nettement ovale.

Dans ces spores on observe la même structure : elles

présentent de même une vacuole centrale et des noyaux: seulement ici je n'ai jamais vu plus de trois noyaux (*fig.* 8, 9, 10, 11).

Le nombre maximum de ces éléments semble être le même dans les spores à queue des kystes branchiaux de la Perche (*fig.* 5-7). Ces spores mesurent 30 μ de longueur, 4 μ de largeur et leurs capsules 6 à 7 μ.

Dans les spores des Epinoches j'ai retrouvé la vacuole (*fig.* 18) mais le nombre des noyaux m'est inconnu, la petite taille des spores et les stries de l'enveloppe en rendent en effet l'observation très difficile.

Outre le protoplasma et les capsules polaires, on trouve dans les spores complexes des Myxosporidies de petits corpuscules réfringents dont le nombre peut varier de 1 à 7, 8 et quelquefois plus (*fig.* 8 *k*). Ils sont disséminés sans aucun ordre dans la spore tantôt dans le plasma, tantôt entre les capsules polaires. M. Balbiani les a observés le premier: Bütschli les a également signalés. Ces corpuscules noircissent fortement dans les spores traitées par l'acide osmique et disparaissent par l'action de l'acool: je crois donc pouvoir les considérer comme de nature graisseuse.

J'ai dit qu'il existait dans les Myxosporidies une autre sorte de spores. Celles-ci dont on peut prendre comme type celles des kystes cutanés de l'Epinoche ont été les premières connues: mais depuis leur découverte par Gluge on avait à peu près complètement négligé leur étude.

Ces spores sont très petites et dans les kystes de l'Epinoche elles ont 3 à 5 μ de longueur sur 2 à 3 de largeur. Examinées dans un liquide, elles présentent un mouvement brownien très prononcé. A l'état frais elles se présentent comme de petits corps ovalaires avec une tache claire à l'une de leurs extrémités ou quelquefois à leur partie centrale (*fig.* 17, *a*, *b*).

Leur enveloppe présente les mêmes caractères chimiques que celle des autres spores. Je n'ai pu parvenir à m'assurer si elle se compose de deux valves : l'acide sulfurique qui amène l'ouverture de l'enveloppe des grandes formes ne donne lieu ici à rien de semblable.

Je n'ai rien trouvé chez elles d'analogue à la vacuole centrale : du moins je n'ai pu obtenir aucun résultat de

BIBLIOTECA

l'action de l'iode, même en employant des solutions dans les liquides les plus pénétrants comme l'alcool absolu et le chloroforme.

Grâce à l'emploi du violet de gentiane mais surtout de la safranine j'ai pu découvrir dans leur intérieur des petits corps qui se colorent par ces réactifs et qui doivent, je crois, être considérés comme des noyaux. Ils sont extrêmement petits : on en voit quelquefois un seul, d'autres fois deux *(fig.* 17, *c. d. e. f.)* trois ou quatre. Leurs dimensions ne m'ont pas permis de voir des phases de division comme dans les autres spores.

Peut-il y en avoir plus de quatre ? Je n'en ai jamais vu davantage distinctement, mais je ne voudrais pas affirmer que ce nombre ne peut être dépassé.

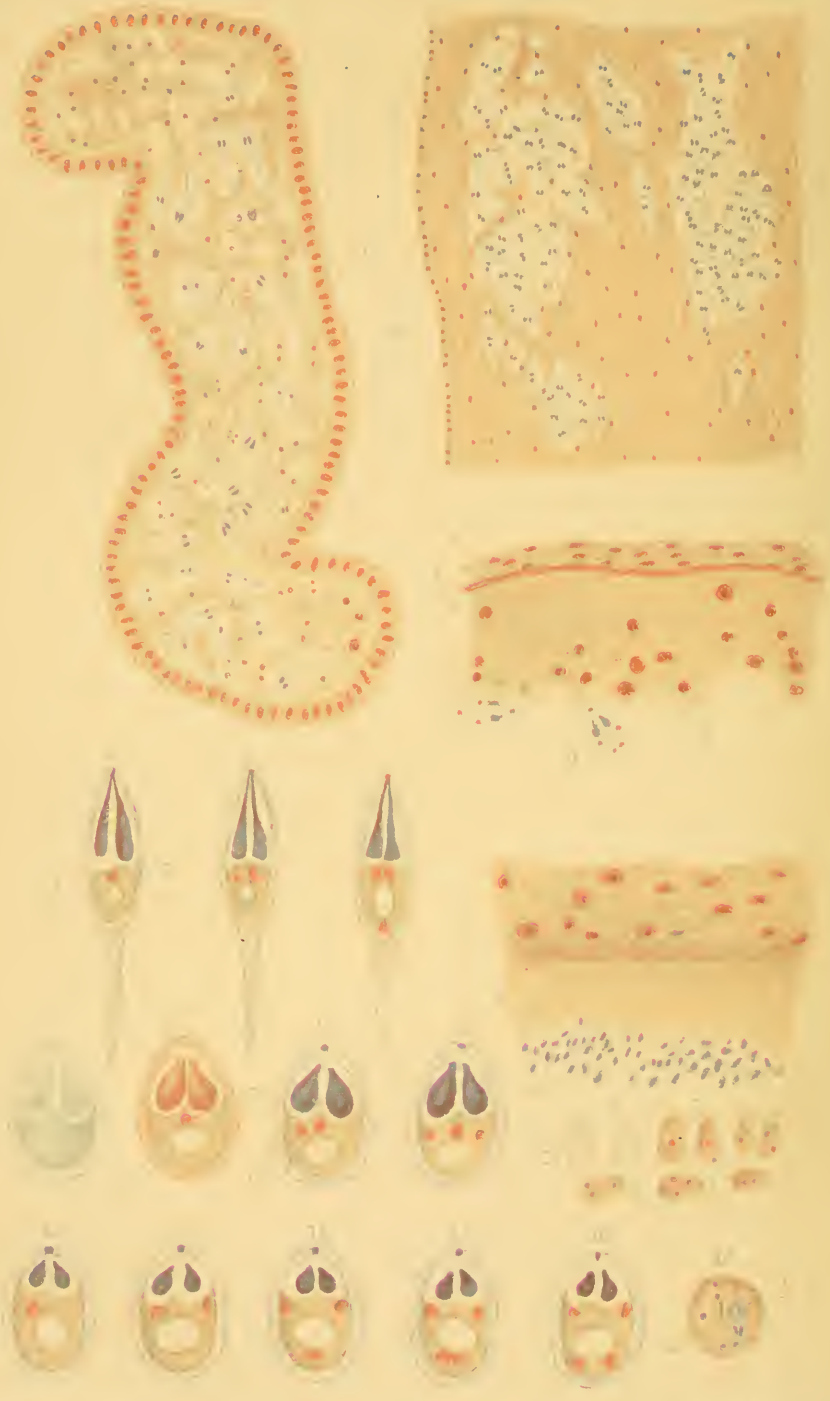
Dans les Myxosporidies du *Cottus scorpio* j'ai trouvé des spores présentant les mêmes caractères ; mais leur mode de formation dans la masse plasmique et la constitution de celle-ci présentent des particularités qui nécessitent une étude plus complète.

En résumé il résulte de mes observations que la même forme de Myxosporidie peut se présenter tantôt sous forme de masses plasmiques libres, soit au sein des tissus, soit dans les cavités naturelles, tantôt sous forme de kystes ; ces derniers sont entourés d'une membrane propre dérivant d'une sorte de condensation de l'ectoplasme, présentant une apparence fibrillaire et dépourvue de noyaux.

Dans les spores les plus simples, caractérisées surtout par l'absence de capsules polaires, il existe des noyaux dont le nombre varie de un à quatre et peut-être davantage.

Dans les spores complexes, à enveloppe bivalve et à capsules polaires, on observe une petite masse de protoplasma dans laquelle s'est différenciée une vacuole remplie d'une substance, qui, réfractaire à l'action des autres réactifs colorants, prend sous l'influence de l'iode une coloration d'un brun rougeâtre. De plus dans ce plasma se trouvent des noyaux résultant de la division d'un noyau primitif et dont le nombre varie avec les différentes formes de Psorospermies.

On observe en outre dans ces spores un nombre variable de globules graisseux.



Je ne puis quant à présent que signaler ces faits, n'ayant pas encore de données suffisantes pour en tenter l'interprétation. L'étude complète de l'évolution de ces intéressants organismes me permettra, je l'espère, d'éclaircir les points encore obscurs de leur histoire et de donner aux faits connus leur véritable signification.

EXPLICATION DES FIGURES

PLANCHE I

Fig. 1. — Coupe d'un tube du rein de l'Epinochette renfermant deux formes de Myxosporidies et coloré par le carmin au borax et le violet de gentiane. — *sp*, Spores à queue. — *s*, Spores sphériques. — *n*, Noyaux de la masse plasmique. — *ep*, Epithélium du tube.

Fig. 2. — Portion d'une coupe de la vessie natatoire d'une Tanche envahie par les Myxosporidies, colorée par le carmin au borax et le violet de gentiane. — *sp*, Spores. — M, restes de la masse plasmique. — *a*, Épithelium interne de la vessie natatoire.

Fig. 3. — Portion d'une coupe d'un kyste branchial de la Tanche, colorée au picro-carmin et au violet de gentiane. — *a*, Épithélium de la branchie. — *b*, Membrane du kyste. — *c*, Protoplasma. — *n*, Noyaux. — *sp*. Spores.

Fig. 4. — Portion d'un kyste sous-cutané de l'Épinoche. — *a*, Tissu conjonctif sous-cutané. — *b*, Enveloppe du kyste. — *c*, Protoplasma. — *sp*, Spores.

Fig. 5, 6 et 7. — Spores d'un kyste branchial de la Perche (carmin et violet de gentiane.) — *c*. Capsules polaires. — *v*, Vacuole centrale non colorée. — *n*, Noyaux. — *p*, Protoplasma.

Fig. 5. — Spore renfermant un seul noyau. — 6, 2 noyaux. 7, 3 noyaux.

Fig. 8, 9, 10, 11. — Spores des kystes sous-cutanés des nageoires du Goujon (*Myxobolus Mülleri de Butschli* ?).

c, Capsules polaires. — *n*, Noyaux. — *p*, Masse plasmique. — 8, Spores à l'état frais. — *k*, Corpuscules graisseux. — *o*, Ouverture de l'enveloppe. — 9, Spore à un noyau colorée à la safranine. — 10 et 11, Spores à 2 et 3 noyaux.

Fig. 12 16. — Spores de la vessie natatoire et des branchies de la Tanche présentant les divers stades de la formation des noyaux, colorées au carmin et au viole de gentiane. — Mêmes lettres que précédemment.

Fig. 17. — Spores des kystes sous-cutanés de l'Épinochette. — *a* et *b*, État frais. — *c*, *d*, *spores*, renfermant un noyau. — *e* et *f*, Deux noyaux. — *g*, Trois. — *h*. *i*, Quatre noyaux (safranine).

Fig. 18. — Sporoblasted'une Myxosporidie de l'ovaire de l'Épinochette montrant une spore en voie de développement et qui présente déjà la vacuole centrale.

SUR LA PRODUCTION DE VARIÉTÉS CHEZ LES SACCHAROMYCES

Par le Dr Emil Chr. HANSEN

Que les espèces ne soient pas invariables, mais au contraire soumises en général à une grande variation, tout le monde le reconnaît aujourd'hui ; nos animaux domestiques et nos plantes cultivées en fournissent notamment des preuves palpables. Les caractères qui nous servent à déterminer les espèces n'ont pas une valeur absolue ; ils sont seulement constants sous certaines conditions. La littérature des végétaux supérieurs est, sous ce rapport, surtout riche en remarquables recherches expérimentales ; les cryptogames n'ont été qu'à un moindre degré l'objet d'une pareille étude. Ce sont de vieilles idées qui, de tout temps, ont occupé les biologistes, elles sont devenues une théorie dans les ouvrages de Darwin. Cependant il reste encore à faire le travail le plus grand et le plus difficile, à savoir de déterminer plus exactement les facteurs qui produisent la variation, pour pouvoir finalement avec leur aide en découvrir les lois.

Je me propose, dans ce qui suit, de donner un court aperçu des résultats auxquels m'ont conduit, dans ce domaine, mes études sur les Saccharomyces. J'omets à dessein ici la plupart des détails, et désire seulement communiquer les faits nouveaux les plus importants. J'espère pouvoir plus tard, dans un mémoire plus développé, donner un exposé détaillé de mes recherches, et j'y traiterai aussi de la partie de la littérature qui s'y rapporte.

Déjà dans mes premières recherches sur les espèces du genre Saccharomyces, j'ai eu l'occasion d'observer comment il s'y produisait facilement des variations, et j'en ai fait l'objet d'une série de communications dans mes

Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques (*Compte rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg*, Copenhague, 1883, 1886 et 1888) et mes *Observations sur les levures de bière* (*Annales de micrographie*, Paris, 1888, p. 13). Dans ce dernier mémoire, j'ai, par exemple, montré comment des individus appartenant à une seule et même espèce de levure basse de brasserie, lorsqu'on cultive à part chaque cellule dans du moût mélangé de gélatine, peuvent développer des végétations d'une nature entièrement différente, les unes se composant de cellules allongées en forme de boudin qu'on doit, d'après M. Reess, rapporter à son *Sacch. Pastorianus*, et les autres au contraire de cellules ovales comme celles de *Sacch. cerevisiæ*, par conséquent deux formes morphologiquement différentes, et la différence se maintient pendant quelque temps lorsqu'on les cultive chacune à part dans du moût de bière, mais elle finit cependant par disparaître et toutes les végétations se composent de cellules ovales.

J'ai obtenu une transformation plus profonde dans mes expériences sur une nouvelle espèce de levure que j'ai appelée *Sacch. Ludwigii* (*Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, 1889, p. 632). En faisant un choix méthodique de certaines cellules, j'ai réussi à faire produire à cette espèce trois formes différentes de végétations. Cultivées chacune à part dans du moût de bière, elles se distinguent par ce caractère, que la première développe un grand nombre de spores, la seconde, au contraire, très peu, et la troisième pas du tout. Après une culture dans le moût de bière, de nombreuses générations de cette dernière forme, tant à la température du laboratoire qu'à 25° c. (c'est-à-dire dans les conditions d'alimentation qui conviennent ordinairement aux cellules, quand il s'agit de leur faire produire des spores), elle n'a cependant pas développé de spores, ni sur de la gélatine humide, ni sur un bloc de plâtre humide. Ce n'est qu'en prolongeant pendant très longtemps la culture dans le moût, que j'ai pu obtenir des végétations qui ont produit des spores, mais jamais en grande quantité. Par contre, en faisant la culture dans une dissolution de dextrose à 10 p. 100 dans de l'eau de levure,

j'ai obtenu aussitôt de nouvelles générations, dont les cellules ont donné une riche et vigoureuse formation de spores.

Puisque ces trois formes de végétations dérivent chacune de leur cellule et appartiennent à une seule et même espèce, elles sont l'expression des particularités individuelles de cette espèce. Les différences observées se maintiennent seulement tant que la culture se fait dans le moût de bière, et même pas complètement; dans la dissolution de dextrose dans l'eau de levure, elles disparaissent totalement.

J'ai déjà, dans un travail antérieur, appelé l'attention sur la grande importance que cette solution a pour les méthodes de culture, en ce qui concerne les levures.

J'ai également, chez d'autres espèces, observé des particularités individuelles du même genre et assez durables.

Toutes ces variations ont cela de commun qu'elles sont plus ou moins fugitives. Nous allons maintenant considérer des cas dans lesquels les nouvelles qualités acquises se sont réellement transmises par hérédité et se sont fixées.

Au commencement de 1889, j'ai communiqué, dans *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, V vol., p. 665) les principaux résultats de quelques expériences sur une espèce du groupe *Sacch. Pastorianus*. J'étais parti de l'idée que les cellules de levure produites à une température plus élevée que celle où les spores cessent de se former chez les cellules, produites à une température sensiblement plus basse, devaient se comporter autrement que ces dernières au moins en ce qui concerne la formation des spores. Je reconnus en effet que les cellules longtemps cultivées dans du moût aéré à une température voisine de la température qui est maximale pour le bourgeonnement, perdaient complètement leur faculté de développer des spores et après avoir, dans de nouvelles cultures au moût de bière faites à des températures favorables, produit des générations sans nombre de cellules végétatives, aucune d'elles ne pouvait former ces corpuscules reproducteurs. Elles avaient cependant un aspect vigoureux, se multipliaient rapidement par bourgeonnement et provoquaient une active fermentation alcoolique. L'expérience avait été commencée précisément

avec une végétation très prompte à produire des spores tant sur des blocs de plâtre humides que sur de la gélatine humide à 25° c. *C'est donc ici un caractère important au point de vue morphologique et systématique qui a été profondément modifié.*

Comme on sait, la production des endospores est en effet le seul caractère positif qui permette de distinguer nettement le genre Saccharomyces d'autres levures analogues. Parmi les caractères très divers que j'ai signalés pour la détermination des espèces de ce genre, la marche du développement des spores, notamment les températures maximum et minimum, occupent aussi toujours une place importante. Le traitement auquel doivent être soumises les cellules des levures pour perdre leur faculté de produire des spores, constitue en réalité une révolution dans leurs fonctions vitales. Qu'il faille le continuer pendant longtemps, cela est facile à comprendre lorsqu'on se rappelle avec quelle ténacité la cellule des Saccharomyces conserve sa faculté de former des spores, même dans des conditions où elle ne peut se multiplier que par bourgeonnement en générations sans nombre, comme, par exemple, dans les brasseries et les distilleries.

Le traitement ci-dessus décrit ressemble à celui qu'on emploie ordinairement pour atténuer le virus du *Bacillus anthracis*, mais le résultat est complètement différent dans les deux cas. Cultivée dans du bouillon neutre de poule à 42-43° c., cette bactérie ne produit en général pas de spores, mais se multiplie seulement par scissiparité; elle perd ainsi peu à peu son virus, mais non la faculté de former des spores. Lorsqu'on la cultive dans des conditions favorables, elle développe en effet comme auparavant ces corpuscules reproducteurs.

Depuis la publication mentionnée plus haut, j'ai poursuivi très activement ces recherches.

Pour plusieurs autres espèces, j'ai obtenu des résultats analogues ; pour quelques-unes mes expériences n'ont pas encore abouti.

Dans les cas qui m'ont donné un résultat positif, j'ai aussi constaté que la composition chimique du liquide nourricier joue un rôle important ; par conséquent une

température assez élevée et l'aération ne sont pas les seuls points décisifs. *Pour désigner les nouvelles formes à caractères héréditaires produites dans mes expériences je les appellerai provisoirement des variétés.* Des recherches ultérieures décideront de leur véritable valeur systématique et nous diront si elles doivent par exemple, être plutôt considérées comme des races nouvelles ou des espèces nouvelles.

Avant de quitter la question de la formation des spores, je ferai encore la communication suivante. Dans mes recherches sur une de ces espèces, je me suis demandé si les cellules, dans les premières phases du traitement, avant d'être parvenues au point où elles perdaient leur faculté de produire des spores, n'avaient pas atteint, relativement à cette fonction une température maximum plus élevée que celle qu'elles avaient au début de l'expérience. Je reconnus que tel était réellement le cas. Il s'agit maintenant de savoir si ce nouveau caractère est héréditaire, ou si les cellules. quand la culture en est continuée, reviennent peu à peu à la température limite primitive. Les recherches que demande la solution de cette question ne sont pas encore terminées.

Il va sans dire qu'une transformation du protoplasma des cellules aussi radicale que celle dont il vient d'être question, doit encore exercer son influence dans d'autres domaines. C'est ce que montrent les recherches suivantes.

Elles ont été faites avec une levure basse de la brasserie et deux de ses variétés, A et B, qui, l'une et l'autre, avaient été soumises au traitement précédent, mais A pendant moins de temps que B, et j'y ai procédé sur une grande échelle dans les conditions de brasserie ; mon but en entreprenant ces expériences, étant non seulement de fournir des contributions théoriques à nos connaissances dans ce domaine, mais aussi d'en tirer des renseignements pratiques pour l'industrie des fermentations. La fermentation principale une fois terminée, il a été constaté que les deux variétés avaient produit moins d'alcool que la levure primitive d'où elles dérivaient. La variété A donnait une meilleure clarification que B et que la levure primitive. Après 2 comme après 3 mois de magasinage, la bière était bonne dans les trois cas ; mais tandis que la bière de B et

celle de la levure primitive, peu après la mise en bouteilles, étaient légèrement opalines et ne devinrent complètement claires qu'au bout de quelques temps, la bière de A se montra toujours très limpide; cette variété avait donc aussi pendant le magasinage donné une meilleure clarification que les deux autres, et la bière en renfermait en outre, encore dans cette période, un peu moins d'alcool que celle de B et de la levure primitive. Par contre, elle se conservait moins bien en bouteilles, c'est-à-dire il s'y formait de meilleure heure un petit précipité de levure. La bière de B et celle de la levure primitive se comportaient alors d'une manière identique; la différence relative à la quantité d'alcool produite que la variété B présentait aussi à la fin de la fermentation principale avait donc disparu pendant le magasinage. Avec la levure produite dans la première expérience, on en a fait une deuxième, avec celle de cette dernière, une troisième, et ainsi de suite cinq fois, la levure employée dans chaque expérience provenant de la précédente, le résultat a toujours été le même. Il semble donc que les expériences relatives à la production de nouvelles variétés pourront avoir une importance pratique. On ne peut encore en tirer des règles générales; elles sont poursuivies dans mon laboratoire, et j'espère pouvoir donner plus tard des renseignements plus détaillés à ce sujet.

Les deux variétés nouvellement produites se distingent nettement de la levure primitive sous un autre rapport, à savoir la formation des voiles. Lorsqu'on abandonne à elle-même, pendant un temps plus ou moins long, une culture de Saccharomyces, il se forme, comme on sait, à la surface du liquide, de petits îlots de cellules de levure qui peuvent ensuite s'étendre et finalement la recouvrir en entier ou en grande partie. (Voir mes *Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques, Compte rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg*, 2e vol., 4e liv., 1886.) Un grand nombre de ballons Pasteur à deux cols et de flacons à moitié remplis de moût de bière stérilisé et formant trois séries égales en nombre, ont été infectés respectivement avec les deux nouvelles variétés et la levure primitive et exposés ensuite partie à la température du laboratoire, partie à la température optimum.

Avant qu'un mois se fût écoulé, il s'était formé des voiles dans tous les ballons et les flacons infectés avec la levure primitive, tandis que 3-4 mois plus tard il n'y en avait pas encore la moindre trace dans les autres. J'ai obtenu le même résultat en opérant sur quelques variétés qui provenaient d'autres espèces que la levure basse de brasserie ci-dessus mentionnée, ce qui montre que les deux fonctions de la formation des spores et de celle des voiles sont dans une certaine dépendance l'une de l'autre.

M. Kayser (*Annales de l'Institut Pasteur*, 25 octobre 1889) a posé dernièrement cette question, à savoir si les cellules de levure, soumises pendant peu de temps dans l'eau à une température élevée voisine de celle qui les fait périr, subissent une transformation telle qu'il en résulte des variétés nouvelles à caractères héréditaires. Ses recherches sur ce point ont abouti au même résultat auquel je suis arrivé il y a six ans (*Les Ascospores chez le genre Saccharomyces. Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg*, 2 vol., 2e liv., Copenhague 1883), à savoir que la température qui est mortelle pour les cellules, au moins dans plusieurs cas, diffère suivant les espèces et que, pour la même espèce, elle est un peu plus élevée pour les spores que pour les jeunes cellules végétatives; les vieilles cellules résistent en outre mieux que les jeunes à cette température. Les expériences de M. Kayser montrent que les cellules de levure soumises à son traitement ne subissent aucune transformation radicale. L'action exercée sur elles par une température élevée, dans les circonstances par lui décrites, est seulement passagère, et il ne s'est pas produit de variétés nouvelles à caractères héréditaires.

Il y a maintenant plus d'un an que j'ai réussi à produire les premières variétés de Saccharomyces. Elles ont depuis lors été cultivées sans interruption tant dans le moût de bière que dans d'autres liquides nourriciers et sur des substrata solides ; en un mot dans des conditions très diverses, et cependant elles n'ont pas recouvré la faculté de développer des spores. Dans le moût de bière, en particulier, il a été produit des générations innombrables, car tous les 14 jours et quelquefois plus souvent, on a procédé à de nouvelles cultures. La transformation qui s'est

opérée dans le protoplasma des cellules a donc été d'une nature si profonde qu'elle se transmet de générations en générations. Il n'y a par conséquent aucune vraisemblance qu'elle disparaisse tant que ces cellules continueront à se multiplier dans le moût.

Le résultat principal de mes recherches est donc la production de variétés dont les nouveaux caractères sont héréditaires dans les cultures les plus diverses.

Laboratoire de Carlsberg, Copenhague, décembre 1889.

LE BACILLE DU CHOLÉRA DANS LE SOL

PAR

Le Dr V. de GIAXA

PROFESSEUR A L'INSTITUT D'HYGIÈNE DE L'UNIVERSITÉ DE PISE

On ne se trompera guère en affirmant que dans le champ d'études si vaste et si intéressant que les récents progrès de la bactériologie ont ouvert à l'hygiène, une place importante appartient aux recherches expérimentales dont le but est de faire connaître de quelle manière les microorganismes pathogènes se comportent dans les divers milieux qui constituent le milieu ambiant dans lequel se meut l'individu. Une juste appréciation des résultats fournis par ces recherches concourt à éclairer l'étiologie des maladies infectieuses en traçant les limites de la part qui doit être attribuée à chacun de ces divers milieux dans la manifestation et la diffusion de ces maladies.

Le sol, dénomination sous laquelle l'hygiène désigne les couches les moins profondes de la croûte terrestre qui sont celles qui ont le plus d'intérêt pour l'hygiéniste, est aussi compris parmi les parties constituantes du milieu ambiant de l'homme et, depuis longtemps déjà, on le considère comme l'un des facteurs de l'étiologie de diverses maladies infectieuses. C'est à M. Pettenkofer surtout que revient le mérite d'avoir attiré l'attention des savants sur ces rapports, spécialement en ce qui concerne le typhus abdominal, le choléra et la fièvre jaune. La théorie émise par M. Pettenkofer se basait autrefois uniquement sur des observations épidémiologiques recueillies avec le plus grand soin, attendu que, jusqu'à ces dernières années, il n'était pas possible de s'appuyer sur des recherches expérimentales. Accueillie au début avec la plus grande faveur par plusieurs, elle a été depuis, à la suite des progrès faits dans les études bactériologiques, attaquée assez vivement

et n'a pu maintenir son exclusivité qui en avait, peut-être, toujours constitué son côté le plus faible. Cependant, la valeur des arguments déductifs avancés par M. Pettenkofer ne saurait être méconnue, et, pour ce motif, il sera impossible de contester la grande importance du sol considéré comme facteur des maladies infectieuses.

Les découvertes postérieures de la bactériologie relatives aux bactéries pathogènes de nombreuses maladies infectieuses, et surtout celles concernant les bactéries spéciales à quelques-unes des maladies dont la théorie localiste rattachait l'étiologie d'une façon intime à l'influence du sol, ont réclamé, par conséquent, l'attention des expérimentateurs et les ont poussés à étudier la façon dont se comportent ces germes dans les différents terrains, ainsi qu'à établir si ces derniers constituent pour ces microorganismes un substratum compatible avec leur reproduction, ou du moins avec la conservation de leur vitalité, conditions nécessaires pour pouvoir admettre que le sol est un milieu permettant la diffusion des germes pathogènes. Ceci, en effet, rendrait possible sinon toujours l'infection directe de l'individu, du moins le transport de ces germes sur d'autres substrata en contact plus intime avec l'homme.

Tel est le but de toutes les recherches expérimentales instituées pour examiner de quelle manière les bactéries pathogènes se comportent dans le sol. Ces recherches ont été toutefois, il faut l'avouer, peu nombreuses jusqu'ici, et elles n'ont pas non plus toujours été exécutées de façon à permettre une appréciation des résultats obtenus. Cette circonstance acquiert d'autant plus d'intérêt que jusqu'à présent les résultats fournis par l'observation directe des faits relatifs à l'importance du sol dans l'étiologie des maladies infectieuses sont assez minces en tant qu'ils concernent la constatation du germe de ces maladies dans le sol pendant leur durée.

Il suffit, en effet, pour s'en convaincre, de jeter un coup d'œil sur la littérature relative à la présence des germes pathogènes dans le sol, et sur les recherches expérimentales effectuées dans ce but.

On a constaté que le sol contient quelques espèces de microbes pathogènes spéciaux, bien que l'on n'ait pas

réussi jusqu'ici à les isoler; mais ce fait est rendu indubitable par les résultats positifs des inoculations de terre aux animaux, et M. Flügge observe avec raison qu'avec aucune autre matière on n'obtient si facilement une infection chez les animaux, cela même si l'on exclut la présence de quelques bactéries pathogènes spéciales que nous connaissons et qui se rencontrent certainement dans plusieurs terrains. Le vibrion septique ou bacille de l'œdème malin est extrêmement répandu sous une forme résistante dans la terre, surtout dans celle qui est riche en matières putrides. Nicolaier, le premier, et après lui nombre d'expérimentateurs ont mis hors de doute la présence du bacille tétanique dans le sol. Nicolaier est aussi le premier qui a isolé de la terre fumée des champs un bacille (*Bac. septicus agrigena*) qui, inoculé aux animaux d'expérience, les tue en peu de temps. En outre, de ces bactéries dont l'existence paraît sinon exclusivement, du moins de préférence liée au sol, il en est encore d'autres pathogènes pour l'homme, à l'égard desquelles on peut établir qu'elles peuvent, sinon se multiplier, du moins se conserver vivantes et virulentes dans le sol. Citons, en première ligne, le bacille du charbon qui, ainsi que l'ont prouvé Pasteur, Chamberland et Roux, peut, après avoir été enfoui dans la terre, rester vivant pendant longtemps. Crookshank a même pu transmettre le charbon à des souris auxquelles il inoculait de la terre prise à un endroit où des cadavres charbonneux avaient été enfouis neuf années précédemment. Tryde et Salomonsen ont trouvé le bacille du typhus dans le sol d'une caserne à Copenhague, dans laquelle une épidémie de typhus s'était produite, et Macé a découvert le même bacille à la profondeur de 2 et 3 mètres dans un terrain se trouvant à proximité d'un puits suspect d'avoir été infecté par le bacille typhique.

Ainsi les preuves directes de la présence et avec celles-ci de la possibilité pour les germes pathogènes de se conserver vivants dans le sol, sont assez rares. Une confirmation indirecte peut être aussi tirée de la présence de ces microorganismes dans les eaux de source ou de puits toutes les fois que la possibilité d'une infection de ces eaux par

une autre voie que par le passage de l'eau ou des matières infectées à travers le sol peut être exclue.

Nous ne sommes guère plus riches en recherches expérimentales tendant directement à élucider la manière de se comporter, dans le sol, des bactéries pathogènes, en ce qui concerne la possibilité pour elles d'y conserver leur vitalité et leur virulence, ainsi que l'influence exercée par le sol sur leurs fonctions biologiques, notamment en ce qui concerne la possibilité de leur reproduction, fait de la plus haute importance, et qui demande à être éclairé, sous peine de rendre inutile l'étude des autres phénomènes relatifs à ces bactéries, tel que, par exemple, le mode de leur diffusion. Pasteur, après avoir mélangé du sang charbonneux à de la terre tenue à une température égale à celle de l'été, a constaté une multiplication des bacilles, déjà accompagnée de sporulation, après un laps de temps inférieur à 24 heures. Schrakamp a pu également prouver expérimentalement que les bacilles du charbon peuvent parcourir dans le sol toutes les phases de leur développement. Soyka a exécuté aussi des recherches expérimentales dont il résulte que le sol constitue un excellent milieu de culture pour les bacilles du charbon et qu'il provoque leur sporulation, dans des conditions favorables.

Koch et après lui d'autres expérimentateurs ont vu le bacille du choléra se conserver et se multiplier dans le sol, quand celui-ci possède le degré nécessaire d'humidité.

Les recherches de Grancher et Deschamps sur le bacille du typhus dans le sol ont amené ces deux expérimentateurs à la conclusion qu'il se maintient vivant pendant plus de 5 mois, à dater du moment de l'infection du sol. Et De Blasi à Palerme, a constaté de son côté la vitalité de ce bacille dans le sol 86 jours après l'infection.

A part les recherches de Pasteur sur le bacille du charbon, dont les résultats sont confirmés par l'expérience acquise sur les terrains naturels dans lesquels ont été enfouis des cadavres d'animaux charbonneux, — les autres recherches et leurs résultats positifs n'ont qu'une valeur relative en raison du fait que bon nombre d'entre elles ont été faites avec de la terre stérilisée, et que, dans toutes, on

n'a pas conservé au sol ses conditions naturelles. Or, une telle chose est difficile à effectuer, aussi le choix de la méthode expérimentale devra, en conséquence, se baser sur la connaissance de toutes les circonstances qui dans le sol créent aux microorganismes un milieu ambiant absolument spécial. La connaissance de ces conditions particulières s'obtiendra par l'examen des propriétés physiques et chimiques des différents terrains et de leur contenu (air, eau, matières organiques, bactéries), en évaluant l'influence de chaque propriété particulière, et en tenant aussi compte de l'influence de l'ensemble de ces propriétés sur les manifestations biologiques des microorganismes. Les recherches y relatives devront s'étendre à bon nombre de bactéries pathogènes, et spécialement à celles dont les rapports avec le sol se laissent déduire de l'observation des endémies et épidémies causées par elles.

Les travaux de Pettenkofer qui ont abouti à la théorie localiste se rapportent surtout au typhus abdominal et au choléra. Mais on peut affirmer que ses bases les plus solides ont été fournies par la seconde de ces maladies dont l'étiologie a été élucidée par la découverte qu'a faite Koch du bacille cholérigène, découverte permettant d'étudier expérimentalement la part éventuelle qui reviendrait au sol. On peut faire abstraction de l'étude des conditions particulières des terrains que l'on considère comme le berceau du germe spécifique du choléra et de la façon dont ces germes se comportent dans ces terrains, mais il n'en est pas moins très intéressant d'étudier la manière dont se comporte le bacille cholérique dans les terrains communs de nos contrées qui, rarement, permettent d'admettre une immunité locale.

Après m'être rendu compte de l'importance de la diversité des conditions présentées par divers échantillons de terrains, j'ai jugé utile de comprendre dans mes recherches les représentants les plus importants du sol, et j'ai, pour cela, expérimenté avec de la *terre de jardin*, avec de l'*argile* et avec *du sable*.

Il m'a paru néanmoins utile de faire précéder la série de mes expériences de recherches destinées à déterminer la façon de se comporter du bacille cholérique dans les

divers terrains maintenus dans le milieu ambiant atmosphérique et enlevés par cela aux conditions spéciales qui se rencontrent dans l'intérieur du sol ; j'ai donc cherché à établir si ces terres soit par elles-mêmes, c'est-à-dire en raison de leur composition chimique, soit en raison de leurs propriétés physiques et de leur teneur en bactéries, influent sur la vitalité du bacille cholérique et s'ils permettent sa reproduction.

Dans le cours de mes recherches, je me suis servi de cultures cholériques qui à la température de 20° donnaient un développement rapide et abondant sur divers terrains nutritifs. J'expérimentai d'abord avec de la terre stérilisée, par quantité de 20 centimètres, pendant 3 heures dans le stérilisateur de Koch et introduite dans des tubes à essai longs de 10 centimètres cubes d'un diamètre de 3, 5 centimètres et fermés à la ouate. A chaque tube (2 pour chaque espèce de terrain), j'ajoutai 1 centimètre cube d'eau distillée stérilisée qui avait été mélangée avec une culture de bouillon de choléra de 48 heures à 22° dans la proportion de 1 centimètre cube de culture pour 20 d'eau. Après l'ensemencement, la terre était bien remuée avec un gros fil de platine afin de répartir uniformément les germes, cela après avoir encore ajouté à la terre de jardin et à l'argile 1 centimètre cube d'eau distillée stérilisée en vue de porter l'humidité de ces deux terrains à environ 15 p. 100 tandis que celle du sable correspondait à environ 8 p. 100. Les tubes étaient placés sous une cloche de verre à côté d'une petite cuvette remplie d'eau afin d'éviter une diminution du degré d'humidité des terrains. La terre de jardin provenait du jardin de notre École de médecine, elle avait été prise à une profondeur de 10 centimètres. Elle était riche en matières organiques et en bactéries et avait été passée au tamis n° 3 de Knop. Le sable avait été recueilli à une profondeur de 20 centimètres sur la rive de l'Arno ; il contenait peu de matières organiques et de rares bactéries. L'argile avait été prise à une profondeur de 50 centimètres dans un terrain argileux des environs de Pise ; elle se trouva être modérément riche en matières organiques et en bactéries.

Dix-huit heures après le transfert des germes dans les terrains, on faisait des plaques de gélatine dans des boîtes

de Petri, en prenant dans chaque tube, à des points divers, 3 anses de terre que l'on mélangeait à 10 centimètres cubes d'eau stérilisée, dont on mettait ensuite de 5 à 2 gouttes dans 10 centimètres cubes de gélatine. Les boîtes étaient tenues à la température de 15-20°. Deux jours après on pouvait y constater un développement *modéré* de colonies de choléra à peu près égal pour les trois terrains. On procéda de même 3 jours plus tard et l'on constata alors un développement *abondant* de colonies cholériques dans les boîtes de terre de jardin et de sable et plus *riche* encore dans les boîtes d'argile. Les *mêmes résultats* furent obtenus dans des cultures effectuées après 8 jours ; après 20 jours, le développement fut *abondant* pour l'argile, *modéré* pour la terre et *maigre* pour le sable.

De ces expériences il résulte que la vitalité et le pouvoir de multiplication du bacille cholérique ne sont pas entravés par les propriétés chimiques de ces trois terrains, que ce bacille y traverse des phases semblables à celles que l'on observe sur les terrains nutritifs ordinaires et qu'une humidité d'environ 15 p. 100 pour la terre et l'argile et de 8 p. 100 environ pour le sable est suffisante pour permettre sa reproduction.

En même temps et en usant des mêmes méthodes je fis des recherches avec les mêmes terrains non stérilisés, parmi lesquels, ainsi que je l'ai déjà remarqué, l'argile et la terre étaient riches en bactéries, tandis que le sable n'en contenait qu'un petit nombre. Les cultures dans des boîtes (3 pour chaque terrain) furent faites avec une dilution plus élevée afin de rendre possible le développement de colonies isolées. Pour cela, 3 anses de terrain prises en des points divers étaient ajoutées à 15 centimètres cubes d'eau stérilisée et les cultures se faisaient avec 5,2 et une goutte. Déjà dans les cultures faites 24 heures après l'infection du terrain on ne put pas constater le développement de colonies cholériques et le même résultat négatif s'observa dans les cultures faites après 2 et 5 jours, tandis qu'il y eut un accroissement notable des microorganismes saprophytes contenus dans les terrains.

Les résultats de cette seconde série d'expériences comparés avec ceux de la première série démontrent qu'il se

produit aussi dans le sol une concurrence entre les saprophytes et le bacille du choléra dans laquelle ce dernier succombe très rapidement. Ce fait concorde pleinement avec les résultats obtenus par d'autres expérimentateurs, et avec ce que nous savons sur la façon de se comporter du bacille cholérigène dans d'autres milieux (l'eau de préférence) dans lesquels l'action des autres bactéries peut prendre un libre essor.

Ici se pose la question de savoir si cette destruction du bacille du choléra a lieu également dans les terrains qui se trouvent dans leurs conditions naturelles. Celles-ci comprennent d'abord l'atmosphère du sol, plus riche en acide carbonique que ne l'est l'air libre, puis la présence dans cette atmosphère d'autres matières gazeuses que l'on considère comme les produits de la décomposition des substances organiques. On y trouve, en outre, deux autres conditions importantes à considérer : la température et l'humidité du sol. De plus dans les terrains pris à leur état normal et plus particulièrement dans leurs couches profondes, les fonctions biologiques des saprophytes ainsi que l'a démontré M. C. Fraenkel, se font autrement que dans les couches du sol plus en contact avec l'atmosphère. Dans les couches profondes la reproduction des saprophytes, même celle des espèces spéciales au sol, subirait un arrêt après un certain temps ; la conservation de ces germes dans le sol serait ainsi possible tandis que leur reproduction serait empêchée en partie du moins. Ce fait a pour nous une extrême importance, en tant que la cause principale de la destruction des germes pathogènes dans le sol disparaîtrait à une certaine profondeur, de sorte que ces derniers pourraient s'y conserver vivants. Ceci est aussi la raison principale pour laquelle les recherches que j'ai faites perdraient de leur valeur, du moment où, connaissant les causes de cette condition, l'on ne pourrait pas en exclure l'importance ni en préciser l'influence sur le microbe pathogène qui pénètre dans le sol. M. C. Fraenkel dont les recherches ont porté sur quelques germes pathogènes les plus intéressants que nous connaissions et sur l'influence qu'exerce sur leur reproduction la température du sol à différentes profondeurs met ce fait en relation avec la diversité des con-

ditions dans les couches superficielles et profondes du sol et cite surtout les modifications dans la composition de l'air du sol, l'augmentation de l'acide carbonique et de l'humidité, de même que l'abaissement de la température. Il est certain que cette dernière condition est une des principales parmi celles qui sont susceptibles d'empêcher ou de ralentir le développement des microorganismes dans les couches profondes du sol, et précisément de ceux qui pour leur reproduction ont besoin d'une température quelque peu élevée. Néanmoins il n'est pas douteux que cette condition ne doive pas être considérée comme la seule, puisque le fait observé par M. Fraenkel peut également être constaté lorsqu'on prélève les échantillons dans les couches profondes du sol dans lesquelles règne une température relativement élevée. Il s'y joint aussi le fait que les saprophytes du sol se développent en grand nombre même à une température inférieure à celle qui empêche la reproduction des bactéries pathogènes avec lesquelles expérimentait M. Fraenkel.

Si l'on considère toutes les conditions du sol dont il est loisible d'admettre les influences dans le sens dont il a été parlé, l'on s'aperçoit que quelques-unes peuvent être exclues. Des recherches expérimentales de M. C. Fraenkel et de celles effectuées par M. P. Frankland, il résulte qu'une influence manifeste de la plus grande teneur en acide carbonique de l'air du sol ne peut pas plus être mise en avant que la diminution relative de l'oxygène. Il en est de même de l'humidité des terrains qui, dans les couches profondes, est certainement, dans le plus grand nombre des cas, suffisante pour rendre possible le développement et la reproduction des saprophytes du sol.

Mon opinion est que la condition qui, en tout temps, doit influer sur l'ampleur, pour m'exprimer ainsi, de la reproduction des bactéries contenues dans les couches profondes du sol, est due, en premier lieu, et dans des conditions spéciales, étant donnée la température assez élevée qui y règne, à la quantité et à l'état des substances organiques, et aussi de quelques minéraux du sol dans ses couches profondes, substances qui doivent fournir aux microorganismes le substratum nutritif nécessaire. Avec la profon-

deur, l'intensité du processus de la décomposition des matières organiques diminue sans aucun doute, et en même temps aussi, le processus de la transformation et surtout de l'oxydation de quelques substances minérales; cette diminution peut, avec raison, être attribuée à la lenteur toujours croissante avec la profondeur de l'échange de l'air du sol contre l'atmosphère libre. On pourrait également dire qu'avec la profondeur, la perméabilité du sol pour l'air diminue aussi, et que cette diminution de la perméabilité ralentit et peut même faire cesser pour une bonne partie les processus d'oxydation et de décomposition qui se poursuivent dans le sol. Il y aurait ainsi entre les couches superficielles et les couches profondes la différence qui s'observe entre un terrain assez perméable et celui qui l'est à un moindre degré; dans le premier, les oxydations se font beaucoup plus rapidement que dans le second. Il en résulterait aussi qu'il y aurait dans les couches profondes une accumulation des produits de décomposition qui, bien qu'inconnus en grande partie, peuvent probablement rendre le milieu ambiant peu apte aux fonctions biologiques des microorganismes du sol, sans que, pour cela, leur vitalité soit abolie. Transportées dans un milieu atmosphérique plus propice, quoique restant dans le même substratum, savoir : la terre, les bactéries des couches profondes récupèrent leur pouvoir biologique et les substances nutritives contenues dans le sol peuvent alors être facilement utilisées comme elles le sont d'une façon continue dans les couches superficielles. De plus, j'estime qu'il faut dans l'étude des différences qui existent entre la reproduction des bactéries dans les couches superficielles et dans les couches profondes, tenir compte d'une autre circonstance qui crée une différence entre les terrains considérés comme substratum des bactéries, et les substrata liquides. Dans les fragments de terre, les bactéries sont déposées à la surface de petits grains sur lesquels le processus de multiplication se poursuit isolément pour chaque individu ou agglomération d'individus. Or, ce processus peut parfaitement être comparé à ce que l'on voit chez les bactéries cultivées sur milieux solides, qui, malgré le substratum favorable à leur nutrition mis à leur

disposition, montrent un pouvoir limité d'extension dans leur reproduction, bien qu'elles conservent leur vitalité après avoir cessé de se reproduire. Ce qui a lieu dans les couches profondes, ne se voit pas dans les couches superficielles, en tant que dans ces dernières des influences extérieures (le mouvement, la pluie, le dépôt de liquide, etc.) modifient constamment le substratum et favorisent le déplacement des bactéries du lieu de leur culture, produisant ainsi, que l'on me permette cette expression, continuellement de nouvelles inoculations dans d'autres points de la surface des grains. Dans ces couches superficielles il se passe généralement ce qui a lieu, lorsqu'on remue le terrain des couches profondes. Mais il faut concéder que, dans ces dernières, où les bactéries sont au repos touchant leurs facultés reproductrices, le fait de l'introduction dans ces couches de matières nutritives convenables, peut suffire pour amener des changements ou donner une nouvelle impulsion au pouvoir de multiplication des bactéries et le garantir pour un certain temps. Cette influence du renouvellement du substratum était du plus haut intérêt pour mes recherches, relativement à l'une des plus graves objections que l'on serait tenté de faire à la méthode que j'ai suivie dans mes travaux tels que je vais les exposer. Pour cela, j'ai cherché à démontrer expérimentalement cette influence du substratum en opérant de la façon suivante : après avoir prélevé une certaine quantité de terre de jardin et l'avoir passée au tamis n° 3 de Knop (0,002 mm.), je la mélangeais dans un mortier et en remplissais 3 tubes de zinc sans fond, hauts de 25 centimètres cubes et d'un diamètre de 6 centimètres. et déterminais en même temps le nombre des bactéries par un centimètre cube de terre.

Les tubes étaient placés dans la terre à une profondeur de plus d'un demi-mètre, et on y enfonçait un mince tube de verre juste assez long pour atteindre l'extrémité inférieure du tube et dépasser de quelques centimètres la surface du sol. Je faisais alors remettre la terre qui avait été extraite de manière à obtenir un terrain compact et à égaliser le terrain environnant. L'extrémité libre du tube de verre était munie d'un tube de caoutchouc comprimé par une petite

pince. Je recouvris ensuite le terrain entourant le tube avec un couvercle de verre d'un diamètre de 30 centimètres, afin d'empêcher la pénétration verticale de l'eau de pluie dans ce point du terrain. Je laissai le tube ainsi pendant plus de 3 mois, et, en décembre, la température moyenne du sol à la profondeur à laquelle se trouvaient les tubes étant d'environ de 8°, j'humectai le terrain du premier tube avec 150 centimètres cubes d'eau distillée stérilisée, celui du second tube avec 150 centimètres cubes de bouillon peptonisé, et celui du troisième tube avec la même quantité d'un liquide stérilisé provenant d'un mélange de fèces et d'urine, dilué à parties égales avec de l'eau distillée et filtrée. Pour éviter que le liquide n'entraînât des bactéries en descendant, je me servis pour l'introduire dans le terrain des tubes de verre mentionnés plus haut. Pour cela, j'introduisais dans le tube de caoutchouc un entonnoir de verre stérilisé, et versais le liquide qui pouvait ainsi descendre lentement ou, pour mieux dire, s'infiltrer latéralement dans la terre, pendant que je retirais assez lentement le tube de verre jusqu'à ce qu'il dépassât le sol de 45 centimètres. Ceci fait, je serrais la pince, je fermais le tube au chalumeau à la hauteur de la surface du terrain, et je recouvrais cet espace de terrain. Après 3 jours, les tubes de zinc furent retirés et je fis avec la terre prise à la moitié des tubes des cultures d'après la méthode dont je me servis pour déterminer le nombre des bactéries dans un sol partiellement stérilisé, et que je décrirai plus tard. Voici les résultats obtenus :

Par centimètre cube de terre humectée avec de l'eau : 106,293 bactéries.

Par centimètre cube de terre humectée avec du bouillon : 213,218 bactéries.

Par centimètre cube de terre humectée avec l'extrait de fèces : 203,729 bactéries.

Le nombre de colonies qui s'étaient développées à l'époque du remplissage des tubes de zinc, était seulement de 61,323 par centimètre cube.

Le résultat de ces recherches démontre l'influence du substratum nutritif, même dans les couches peu superficielles du sol, indépendamment des conditions physiques

de ce dernier, parmi lesquelles on doit citer en première ligne la température. Bien que celle-ci fût en moyenne de 8°, il y eut néanmoins après 3 jours une augmentation de bactéries dans le terrain arrosé seulement avec de l'eau ; dans celui humecté avec du bouillon, de même que dans celui arrosé avec des matières fécales liquides ; l'augmentation fut assez considérable, et triple de celle constatée dans le premier cas. Il est donc permis de dire que, même dans les couches peu rapprochées de la superficie, les bactéries peuvent se reproduire quand on modifie leur substratum nutritif, circonstance dont il faudra tenir compte dans nos déductions ultérieures.

Voici maintenant de quelle façon j'ai procédé dans mes expériences. Ainsi que je l'ai déjà dit, celles-ci s'étendent aux trois espèces de terrains sus-mentionnés ; pour chacune d'elles, je déterminais, dans toutes les expériences où je ne *stérilisais pas le terrain*, le nombre des bactéries vulgaires qu'elles contenaient, en même temps que le degré d'humidité. Je n'ai pas jugé nécessaire de mesurer la quantité exacte des matières organiques des différents terrains qui était notable dans la terre de jardin et modérée dans l'argile et le sable, — tant parce qu'elle pouvait dans chaque cas être considérée comme suffisante pour fournir les matières nutritives nécessaires, que par ce qu'avec l'ensemencement on y introduisait une quantité non négligeable de substances nutritives. Les trois espèces de terre furent toujours prélevées au même endroit et à la même profondeur. La terre de jardin était passée au tamis n° 3 de Knop, pour en enlever les grains les plus grossiers et les racines. On déterminait aussi la porosité de chaque terre d'après la méthode de Pettenkofer, après l'avoir fait sécher à la température ambiante.

Je trouvai pour la terre de jardin une porosité = 40,3 % du vol.
— l'argile — = 42,8 % —
— le sable — = 37,7 % —

Chaque expérience était précédée d'une détermination du nombre des bactéries contenues dans une quantité de poids connu de terre, en me servant pour cela des méthodes de

culture employées dans les autres numérations. Les expériences se faisaient en double pour chaque espèce de terre : dans une série j'employais la terre telle quelle immédiatement après son prélèvement ; dans une autre série, plutôt que d'étudier le mode de se comporter du bacille cholérigène dans des terrains stérilisés, je crus plus utile de rechercher quelle influence l'augmentation progressive des saprophytes vulgaires existant dans les terrains employés exerce sur sa vitalité et sa reproduction. Ceci est, en effet, sans nul doute, du plus haut intérêt pour l'hygiène surtout pour ce qui est relatif à l'application de mesures d'assainissement.

Je diviserai donc l'exposé de la méthode que j'ai suivie et les résultats que j'ai obtenus en deux parties, la première comprendra les recherches concernant *les terrains naturels*, la seconde, *les terrains partiellement stérilisés*. J'ajoute aussi que j'ai cru nécessaire de tenir compte des principaux caractères physiques du sol dans lequel se sont exécutées les recherches. Pour cela je mesurais, auprès de l'endroit où se pratiquaient les recherches à différentes profondeurs du sol, la température deux fois par jour et j'en évaluais approximativement l'humidité en me basant sur l'observation des oscillations de l'eau souterraine et des chutes de pluies. Je déterminais en même temps tous les 2 jours, la quantité d'acide carbonique contenue dans l'air du terrain en me servant, d'après la méthode de Pettenkofer de tubes de fer introduits dans le sol, près du lieu de l'expérience à diverses profondeurs.

Les recherches ont été exécutées dans un enclos du jardin de notre École de médecine, dont le terrain est constitué, de la surface jusqu'à une profondeur de 30 à 40 centimètres, par de la terre de jardin, plus bas par une couche de remplissage épaisse d'environ un mètre, à laquelle succède une couche d'argile assez compacte. La proximité de l'Arno maintient le niveau de la nappe souterraine toujours assez élevé ; on peut estimer que dans le sol où se sont faites les expériences, son niveau se trouvait à environ $1^{m},30$ de la surface, tout en présentant de rapides et notables oscillations. J'ai dû, pour ce motif, limiter mes recherches à la profondeur maximum de 1 mètre.

Il eut été dangereux d'infecter directement le terrain avec

des germes cholériques, tant à cause du niveau élevé de la nappe souterraine qu'à cause de la proximité des habitations. En outre, ce mode d'expérimentation ne m'eût pas permis d'étudier l'augmentation, la diminution et la disparition éventuelle du bacille cholérigène, ni la façon dont se comportent les saprophytes, attendu que l'on n'aurait pas pu éviter la dispersion des bactéries dans le terrain, dispersion due spécialement, dans les couches peu profondes, à l'action de l'eau de pluie. De plus, pour transporter le germe cholérique à une certaine profondeur, il aurait fallu remuer le terrain, ce qui n'aurait non moins altéré les conditions de la méthode que j'ai adoptée.

Je n'ai pas étendu mes recherches au mode de se comporter du bacille du choléra à la surface du sol et dans les couches plus superficielles (5-10 centimètres) vu que les recherches effectuées jusqu'ici à l'égard des terres maintenues dans le milieu ambiant commun sont de nature à éclaircir ce point et qu'il y a lieu de tenir grand compte, dans ce cas, de l'influence de la sécheresse. Les observations sur la manière d'être du bacille du choléra dans l'intérieur du sol, au contraire, manquent totalement, bien qu'elles présentent le plus grand intérêt.

Recherches relatives aux terrains naturels. — Pour les recherches relatives aux terrains naturels, j'ai choisi les profondeurs de 25, 50 et 100 centimètres, le niveau élevé de la nappe souterraine ne permettant pas, ainsi que je l'ai déjà dit, de descendre à une plus grande profondeur. Du reste, ce sont les profondeurs qui ont le plus d'intérêt pour nous, attendu qu'elles sont le plus exposées à être souillées par des germes pathogènes, soit que ceux-ci y pénètrent depuis la surface, soit qu'ils y arrivent latéralement par l'infiltration de liquides.

Dans le but de soumettre les terrains infectés à l'action de l'air du sol et de les soustraire à l'influence des conditions atmosphériques, j'ai usé du procédé suivant : Trois cylindres en toile métallique de laiton à mailles d'un diamètre de 1 millimètre, de 6 centimètres de diamètre et longs de 105, 55 et 35 centimètres étaient introduits dans le sol, de façon à ce qu'ils dépassassent la surface du terrain de 5 centimètres. Trois autres cylindres de même

longueur que les trois premiers et faits de la même toile métallique, mais dont le diamètre était de quelques millimètres plus petit pouvaient être introduits dans les premiers de façon à ce que leurs parois se touchassent presque. Les cylindres intérieurs étaient munis au fond d'un disque de zinc, tenu en place par des vis. A 12 centimètres du fond, un second disque de zinc, dont la surface interne était munie à son centre d'une anse de métal, se trouvait fixé horizontalement dans l'intérieur du cylindre. La portion du cylindre située au-dessus du disque était remplie avec la même terre de jardin fournie par l'excavation pratiquée pour introduire le cylindre externe, et pressée de façon à la rendre aussi compacte que le sol naturel. Les cylindres étant ainsi disposés, et la terre infectée placée dans l'espace entre les deux disques, celle-ci se trouvait comme dans une petite chambre contenant la même atmosphère que le sol et jouissant d'une température égale à celle de ce dernier, tout en restant protégée contre la promiscuité des bacilles vulgaires de la terre. Les cylindres une fois introduits dans le terrain, y étaient laissés plus d'un mois afin que l'atmosphère du sol pût récupérer ses propriétés antérieures, que le remuement du terrain avait dû altérer.

Pour maintenir dans les cylindres la quantité de terre mise en expérience, je me suis servi de petits sacs de toile de laiton comptant 180 fils par centimètre carré, ce qui ôtait toute possibilité d'une dispersion de la terre. Je donnais aux sachets une forme cylindrique et 8 centimètres de hauteur sur un diamètre de 4 centimètres; on pouvait facilement y introduire 100 grammes de terre. Les sachets étaient fermés avec un mince fil de cuivre argenté, munis d'une anse faite du même fil à laquelle on attachait une ficelle; celle-ci passait par l'anse attenant au disque et était attachée à l'une des mailles du tube intérieur. Il était ainsi facile de sortir et de replacer les sachets.

Dans chaque expérience et pour chaque terrain, je déterminai le degré d'humidité, en faisant sécher à 100° jusqu'à poids constant de 100 grammes de terre. Pour infecter les 3 terrains on en mettait 100 grammes dans une capsule de porcelaine stérilisée, on l'humectait à plusieurs reprises avec le liquide infectieux et l'on mélangeait avec

une spatule de métal stérilisée. Le liquide servant à l'infection était fourni par des cultures sur agar auxquelles on ajoutait une quantité déterminée d'eau distillée stérilisée (6 centimètres cubes) et que l'on agitait jusqu'à obtention d'une émulsion homogène. Après cela, la terre était introduite dans l'un des sachets, préalablement stérilisés par un flambage, et comprimée de façon à la rendre aussi compacte que le terrain naturel. J'ai, chaque fois, tenu compte de l'augmentation de l'humidité de la terre par suite de l'adjonction du liquide d'infection et l'ai comprise dans l'indication du degré d'humidité. Le sachet était alors placé dans le tube intérieur, celui-ci introduit dans l'autre tube et le tout recouvert avec de la terre tassée comme elle l'était précédemment.

La détermination du chiffre des bactéries communes contenues dans chaque terrain était suivie, après l'infection, d'une seconde numération des germes vulgaires réunis à ceux du choléra. Tant pour celles-ci que pour les numérations ultérieures, j'usais du procédé suivant. Avant tout je rapportais le chiffre des bactéries au volume de la terre et pour mesurer celui-ci je me servais d'une petite cuillère en cuivre avec laquelle je prélevais l'échantillon de terre, en ayant soin d'égaliser sa surface après l'avoir légèrement comprimé dans la cuillère avec une petite spatule. Pour connaître le volume de la cuillère il n'y avait qu'à la remplir d'eau. L'échantillon ainsi prélevé était mélangé dans un tube à essai avec 10 cent. cubes d'eau distillée stérilisée, uniformément réparti au moyen d'un gros fil de platine et agité longtemps pour dissocier autant que possible les parcelles de terre. Un nombre déterminé de gouttes de cette émulsion était alors dilué dans 10 centimètres d'eau stérilisée et une petite portion de celle-ci (1, 2 et 5 gouttes) ajoutée à la gélatine que l'on coulait en plaques dans des boîtes de Petri.

Ici nous nous trouvons en présence des objections qu'on adresse à l'exactitude de cette méthode employée par d'autres auteurs et par moi-même, pour déterminer le nombre des bactéries du sol. M. C. Fraenkel estime qu'en lavant le terrain les cultures ne donnent pas des résultats assez exacts, et il conseille d'introduire directement de pe-

tites portions de terre dans la gélatine roulée en tubes d'Esmarch. Si le procédé préconisé par M. Fraenkel peut servir pour des terres ne contenant pas un grand nombre de bactéries, son adoption pour des terres riches en microorganismes devient difficile, attendu qu'il ne permet pas d'obtenir une dilution assez faible pour permettre le développement distinct des colonies et par suite leur numération et leur étude ; en outre, il est impossible de retarder les colonies liquéfiantes dans leur développement, ce que l'on peut facilement faire sur les plaques et dans les boîtes.

La numération des colonies fut faite avec l'appareil de Petri et la différentiation des colonies cholériques au moyen du microscope et souvent par des préparations colorées. Pour empêcher une extension excessive des colonies liquéfiant rapidement la gélatine, qui auraient rendu impossible le développement des colonies isolées de choléra et leur différentiation, je les détruisais au début de leur croissance avec du permanganate de potasse. Le chiffre des colonies de choléra est indiqué au taux p. 100 du nombre total des colonies qui se sont développées.

Pour faire les prises de terrains après une période de temps déterminé à partir de l'infection, on retirait le tube intérieur du sol, on enlevait le disque inférieur et l'on sortait le sachet. Avec la petite cuillère on en mêlait bien la terre et l'on y puisait la quantité nécessaire pour les cultures. L'opération s'effectuait avec la plus grande rapidité (1 minute) afin que la terre du sachet ne restât exposée que le moins longtemps possible à l'air libre.

Voici l'exposé des résultats de ces expériences. Employant une double série de tubes, j'ai pu les faire simultanément avec l'argile et avec le sable.

Expérience 1. — Durée de l'expérience, du 27.IV au 5.V.

Terre de jardin. — Humidité 14 p. 100. Nombre des colonies. 58,600 pour 0,1 centimètre cube de terre. Infection avec une culture de choléra sur agar de 2 jours à 22°.

Température du sol à 25 cm.	Max..... 16°,7 Min..... 12°,4 Moyenne. 14°,9	à 50 cm.	Max..... 15°,4 Min..... 12°,9 Moyenne. 13°,9	à 1 m.	Max..... 13°,9 Min..... 12°,8 Moyenne .. 13°,5

Hauteur du niveau de la nappe d'eau souterraine (Distance de la superficie du sol à la surface du sol) : Max ..... 127 ; Min ..... 120 ; Moyenne..... 123

Pluie : quantité totale en millimètres : 21,8.

Acide carbonique contenu dans l'atmosphère du sol : moyenne à 25 centimètres, 13,6 p. 1000 ; à 50 centimètres : 23,3 p. 1000 ; à 1 mètre, 16,1 p. 1000.

Nombre de colonies auxquelles 0,1 centimètre cube de terre a donné naissance après :

L'INFECTION		1 JOUR		4 JOURS		8 JOURS	
—		—		—		—	
en tout		en tout		en tout		en tout	
503 . 000	à 25 cm.	155,000 col. ;	6 % chol.	1,755,000 col. ;	0 chol.	1,120,000 col. ;	0 chol.
79 % col	» 50 »	120,000 »	4 % »	1,070,000 »	0 »	1,070,000 »	0 »
de choléra	» 1 m.	85,000 »	2.5 % »	1,490,000 »	0 »	1,490,000 »	0 »

EXPÉRIENCE 2. — Durée de l'expérience, du 8.V au 15.V.

Terre de jardin. — Humidité 17 p. 100. Nombre des colonies, 598,000 pour 0,1 centimètre cube de terre. Infection avec une culture de choléra de 2 jours à 22°.

Température du sol à 25 cm.	Max.	17°,8	à 50 cm.	Max.	16°,6	à 1 m.	Max. 15°,3
	Min.	15°,9		Min.	15°,9		Min. 14°,4
	Moyenne.	17°		Moyenne.	16°,3		Moyenne. 14°,9

Hauteur du niveau de la nappe d'eau souterraine (Distance de la superficie du sol à la surface de l'eau)	Max	130
	Min.	122
	Moyenne	126

Pluie : quantité totale en millimètres : 0,25.

Acide carbonique contenu dans l'atmosphère du sol : moyenne à 25 centimètres, 17,7 p. 1000 ; à 50 centimètres, 26,3 p. 1000 ; à 1 mètre, 22 p. 1000.

Nombre de colonies auxquelles 0,1 centimètre cube de terre a donné naissance après :

L'INFECTION		1 JOUR		3 JOURS		7 JOURS	
—		—		—		—	
en tout		en tout		en tout		en tout	
758,900 col.	à 25 cm.	3,632,000 col. ;	5,2 % chol.	3,320,000 col. ;	0 chol.	3,430,000 col. ;	0 chol.
19 % de	» 50 »	2,710,000 »	6.3 % »	1,664,000 »	0 »	1,600,000 »	0 »
choléra.	» 1 m.	2,810,000 »	8,3 % »	2,310,000 »	0 »	2,270,000 »	0 »

EXPÉRIENCE 3. — Durée de l'expérience, du 21.VII au 7.VIII.

Terre de jardin. — Humidité 13,5 p. 100. Nombre des colonies, 520,000 par 0,1 centimètre cube de terre. Infection avec une culture de choléra de 3 jours à 22°.

Température du sol à 25 cm.	Max.	24°,7	à 50 cm.	Max.	24°	à 1 m.	Max. 22°,2
	Min.	21°		Min.	21°,4		Min. 21°,4
	Moyenne.	23°,5		Moyenne.	22°,7		Moyenne. 21°,8

Hauteur du niveau de la nappe d'eau souterraine Distance de la superficie du sol à la surface de l'eau)	Max	139
	Min.	130
	Moyenne	134

Pluie : quantité totale en millimètres : 20,0.

Acide carbonique contenu dans l'atmosphère du sol : moyenne à 25 centimètres, 15,1 p. 1000 ; à 50 centimètres, 25,6 p. 1000 ; à 1 mètre, 24,2 p. 1000.

Nombre de colonies auxquelles 0,1 centimètre cube de terre a donné naissance après :

L'INFECTION		1 JOUR		4 JOURS		17 JOURS	
		en tout		en tout		en tout	
947,000 col.	à 25 cm.	1,470.000 col. ;	7 °/₀ chol.	1,550.000 col. ;	1,5 °/₀ chol.	324,700 col. ;	0 chol.
50 °/₀ de	» 50 »	1,070,000 »	17 °/₀ »	2,070,000 »	0,6 °/₀ »	556,000 »	0 »
choléra.	» 1 m.	1,500,000 »	19 °/₀ »	1,623,000 »	1 °/₀ »	347,000 »	0 »

EXPÉRIENCE 4. — Durée de l'expérience, du 10.VIII au 16.VIII.

Argile. — Humidité 14 p. 100. Teneur en bactéries, 336,000 pour 0,1 centimètre cube de terre. Infection avec une culture de choléra de 3 jours à 23°.

Température du sol à 25 cm.	Max..... 24°,3 Min..... 21°,7	à 50 cm.	Max..... 25°,3 Min..... 21°,9	à 1 m.
	Moyenne. 22°,9		Moyenne. 22°,8	

Hauteur du niveau de la nappe d'eau souterraine (Distance de la superficie du sol à la surface de l'eau)	Max.....	149
	Min.....	142
	Moyenne.....	148

Pluie : Quantité totale en millimètres : 6,5.

Acide carbonique contenu dans l'atmosphère du sol ; moyenne à 25 centimètres, 11, 1 p. 1000 ; à 50 centimètres, 21, 3 p. 1000 ; à 1 mètre de profondeur, 25, 3 p. 1000.

Nombre de colonies auxquelles 0,1 centimètre cube de terre a donné naissance après :

L'INFECTION		1 JOUR		6 JOURS	
		en tout		en tout	
1,730,000 col.	à 25 cm.	2,300,000 col. ;	0,5 °/₀ chol.	2,200,000 col. ;	0 chol.
81 °/₀ de chol.	» 50 »	2,940.000 »	0,3 °/₀ »	895,000 »	0 »
	» 1 m.	2.070,000 »	2 °/₀ »	1,160,000 »	0 »

EXPÉRIENCE 5. — Durée de l'expérience, du 21.VIII au 28.VIII.

Argile. — Humidité 14,3 p. 100. Teneur en bactéries, 248,000 pour 0,1 centimètre cube de terre. Infection avec une culture de choléra de 3 jours à 23°.

Température du sol, à 25 cm.	Max..... 23°,6 Min..... 20°.1	à 50 cm.	Max..... 22°,7 Min..... 20°,1	à 1 m.
	Moyenne. 21°,6		Moyenne. 21°,7	

Hauteur du niveau de la nappe d'eau souterraine (Distance de la superficie du sol à la surface de l'eau)	Max.....	155
	Min.....	144
	Moyenne.....	149

Pluie : quantité totale en millimètres : 14,5.

Acide carbonique contenu dans l'atmosphère du sol : moyenne à 25 centimètres, 8,8 p. 1000 ; à 50 centimètres, 18 p. 1000 ; à 1 mètre, 25,3 p. 1000.

Nombre de colonies auxquelles 0,1 centimètre cube de terre a donné naissance après :

L'INFECTION — en tout		2 JOURS — en tout		7 JOURS — en tout	
580,000 col.	à 25 cm.	1,500,000 col.	0,3 % chol.	1,600,000 col.	0 choléra.
48 % de chol.	» 50 »	2,300,000 »	0,2 % chol	1,300,000 »	0 choléra.
	» 1 m.	1,700,000 »	0,9 % chol.	930,000 »	0 choléra.

Expérience 6. — Durée de l'expérience, du 10.VIII au 16.VIII.

Sable. — Humidité 5,5 p. 100. Nombre des colonies, 27,000 pour 0,1 centimètre cube de sable. Infection avec une culture de choléra de 3 jours à 22°.

Température du sol à 25 cm.		à 50 cm.		à 1 m.	
	Max..... 24°,3	Max..... 23°,5		Max..... 22°,2	
	Min..... 21°,7	Min..... 21°,9		Min..... 21°,9	
	Moyenne. 22°,9	Moyenne. 22°,8		Moyenne.. 22°,1	

Hauteur du niveau de la nappe d'eau souterraine (Distance de la superficie du sol à la surface de l'eau)	
	Max..... 149
	Min..... 142
	Moyenne..... 148

Pluie : quantité totale en millimètres, 6,5.

Acide carbonique contenu dans l'atmosphère du sol : moyenne à 25 centimètres, 11,1 p. 1000 : à 50 centimètres, 21,3 p. 1000 ; à 1 mètre, 25,3 p. 1000.

Nombre de colonies auxquelles 0,1 centimètre cube de sable a donné naissance après :

L'INFECTION — en tout		1 JOUR — en tout		6 JOURS — en tout	
260,000 col.	à 25 cm.	835,000 col.	8 % chol.	1,500,000 col.	0 choléra.
97 % de chol	» 50 »	915,000 »	30 % »	793,000 »	0 choléra.
	» 1 m.	780,000 »	19 % »	1,380,000 »	0 choléra.

Expérience 7. — Durée de l'expérience, du 21.VIII au 28.VIII.

Sable. — Humidité 6 p. 100. Nombre des colonies, 44,000 pour 0,1 centimètre cube de sable. Infection avec une culture de choléra de 3 jours à 23°.

Température du sol, à 25 cm.		à 50 cm.		à 1 m.	
	Max..... 23°,6	Max..... 22°.7		Max..... 21°,9	
	Min..... 20°,1	Min..... 20°,1		Min..... 21°,1	
	Moyenne. 21°,5	Moyenne. 21°,7		Moyenne.. 21°,7	

Hauteur du niveau de la nappe d'eau souterraine (Distance de la superficie du sol à la surface de l'eau)	
	Max..... 155
	Min..... 144
	Moyenne..... 149

Pluie: quantité totale en millimètres, 14,5.

Acide carbonique contenu dans l'atmosphère du sol : moyenne à 25 centimètres, 8,8 p. 1000; à 50 centimètres, 18 p. 1000; à 1 mètre, 25,3 p. 1000.

Nombre de colonies auxquelles 0,1 centimètre cube de sable a donné naissance après :

L'INFECTION — en tout		2 JOURS — en tout		7 JOURS — en tout	
63,000 col.	à 25 cm.	5,590.000 col. ;	0,3 °/₀ chol.	2,400,000 col. ;	0 choléra.
28 °/₀ de chol	» 50 »	3,730.000 »	0,16 °/° »	2,300,000 »	0 choléra.
	» 1 m.	3,050,000 »	0,2 °/₀ »	3,200,000 »	0 choléra.

Il ressort de l'étude des résultats exposés dans ces tableaux que dans toutes les expériences, et quelque ait été la nature du sol, le bacille du choléra a disparu relativement vite indépendamment de la quantité variée de matières infectieuses ajoutées au terrain et des propriétés du terrain employé, y compris le nombre des bactéries vulgaires qui s'y trouvent ; que cette disparition du bacille cholérique a toujours été accompagnée d'une notable augmentation de bacilles vulgaires. On constate, en effet, déjà 24 heures après l'infection une très grande diminution des bacilles du choléra, qui est beaucoup plus accentuée après deux jours et se change en disparition totale après un temps un peu plus long (3 à 7 jours), excepté dans l'expérience 3, dans laquelle il y a eu encore au bout de 4 jours, développement de quelques colonies de choléra. Pendant la durée de presque toutes les expériences, la température du sol ne fut pas inférieure à celle à laquelle le bacille du choléra peut encore se développer, et dans la plupart de ces essais elle lui fut même favorable. Les variations de profondeur — 25 centimètres, 50 centimètres et 1 mètre — ne provoquent pas de différence appréciable dans le mode de se comporter du bacille, et de même on n'aperçoit aucune différence notable due aux variations dans la proportion d'acide carbonique contenu dans l'atmosphère de la terre, ni aux facteurs qui peuvent modifier l'humidité du sol.

Les conclusions qu'il est permis de tirer des recherches sur les terrains naturels pourront être mieux appréciées, quand j'aurais exposé la seconde série de mes recherches sur les terrains modifiés.

Recherches sur les terrains partiellement stérilisés. — Il m'a semblé superflu de faire des expériences avec des terrains entièrement stérilisés dans lesquels, ainsi que le confirment les résultats exposés précédemment, le bacille cholérique peut se maintenir longtemps vivant et même se multiplier. De plus, j'ai pu me convaincre que la stérilisation parfaite d'une quantité un peu considérable de terre (300 à 400 gr.) réussit difficilement à moins de s'exposer à en altérer les propriétés chimiques, par une température élevée. J'avais, du reste, surtout intérêt à savoir comment le bacille du choléra se comporterait dans des terrains contenant un nombre réduit de bactéries qui auraient l'occasion d'augmenter lentement, l'influence de l'atmosphère libre étant exclue pendant ce temps, ce qui dans les expériences antérieures n'avait pas pu se faire, à cause de la nécessité où l'on se trouvait d'extraire le tube du sol pour chaque analyse.

Voici de quelle façon j'ai procédé dans ces recherches : Deux excavations profondes de 1 mètre et d'un diamètre de 60 centimètres étaient pratiquées dans le sol, en ayant soin de ménager la stratification naturelle du terrain extrait. Dans chaque excavation on introduisait une corbeille haute de 110 centimètres, du même diamètre que l'excavation et dont les parois avaient des mailles assez larges pour donner un accès facile à l'air. Les parois et le fond de la corbeille étaient exactement accolées aux parois de l'excavation. Le fond de la corbeille était recouvert à l'intérieur d'une couche de terre de 10 centimètres de hauteur. Des petits sachets identiques à ceux des premières expériences étaient alors remplis de terre et suspendus par un fil métallique sous un entonnoir renversé, lavé intérieurement avec une solution de sublimé et dont l'orifice étroit était fermé avec de la ouate de façon à permettre le renouvellement de l'air contenu dans l'entonnoir. Sous chaque entonnoir se trouvaient 3 sachets, chacun remplis de l'une des 3 terres mises en expériences, et suspendus de manière à ne pas avoir de contact entre eux, ce qui pouvait facilement se faire au moyen d'un fil métallique recourbé. Ceci fait, l'un des entonnoirs était placé au fond de la corbeille et l'espace supérieur recouvert avec la terre, tassée

de manière à être aussi compacte que précédemment. A la hauteur de 50 centimètres on plaçait le second entonnoir et l'on achevait de remplir l'excavation. De cette façon il y avait sous les entonnoirs un espace que pouvait traverser l'air du sol, tandis que les sachets restaient à l'abri de toute contamination.

Pour chaque expérience on faisait bouillir pendant 2 heures dans une capsule de fer, avec 500 grammes d'eau 300 grammes de chacune des espèces de terre employées dont on déterminait en même temps l'humidité (terre de jardin, argile, sable). La chaleur était réglée de manière à ce que l'eau s'évaporât lentement et que la terre récupérât son degré d'humidité primitif. Après refroidissement, on ajoutait à chaque espèce de terre la quantité voulue de liquide infectant et, après l'avoir bien mélangée, on la divisait en 3 portions, qui servaient à remplir 3 des petits sachets. En même temps, il était procédé à une numération des germes de cette terre d'après le procédé que je vais décrire. Les entonnoirs, une fois placés dans le sol, n'en étaient retirés qu'au moment de l'examen, de sorte que pendant toute la durée de l'expérience ils se trouvaient dans les mêmes conditions que le sol environnant pour ce qui est de la température et l'atmosphère du terrain.

L'examen d'une portion de la terre de suite après son infection et de celle des sachets à la fin de l'expérience se pratiquait de la façon suivante, afin d'éviter une cause d'erreur du fait de la distribution inégale du bacille cholérique dans toute la terre du sachet. Des ballons de verre munis d'un bouchon rodé, d'une capacité de 500 centimètres cubes, stérilisés à 50°, recevaient chacun 100 centimètres cubes d'eau distillée et étaient pesés. Après une nouvelle stérilisation dans la vapeur (100°) de 2 heures de durée, la terre fraîchement infestée et celle contenue dans les sachets extraits a la fin de l'expérience étaient ajoutées à l'eau des ballons et ceux-ci pesés, de nouveau. L'eau et la terre étaient bien mélangées au moyen d'un gros fil de platine et le ballon fréquemment agité pour obtenir la dissociation des bactéries adhérant à la surface des grains. Après cela on diluait 1 centimètre cube du mélange dans

9 centimètres d'eau distillée stérilisée et l'on faisait les plaques dans des boîtes de Petri en ajoutant à la gélatine 1 centimètre cube, 1/2 et 1/5 de centimètre cube de la dilution. Comme dans les premières expériences on comptait les colonies des bacilles du choléra et celles des bactéries vulgaires. Pour reporter les résultats des cultures au volume du terrain, je déterminais pour chaque espèce de terre le volume correspondant à 100 grammes, et faisais les réductions d'après ce calcul.

Les résultats de ces recherches furent presque toujours les mêmes ; ceux contenus dans les tableaux suivants peuvent servir d'exemple.

Expérience 1. — Durée de l'expérience, du 12.VIII au 16.VIII.

On avait ajouté à chaque 100 grammes de terre, 1 centimètre cube d'une culture de choléra sur agar, de 2 jours, diluée dans 8 centimètres cube d'eau.

Température du sol, à 50 cm.....	Maximum....	23°,1	à 1 m.	Max.....	22°,2
	Minimum....	21°,8		Min.....	21°,9
	Moyenne.....	22°,5		Moyenne.	22°

Teneur de l'air du sol en acide carbonique : moyenne à 50 centimètres, 22,2 p. 1000 ; à 1 mètre, 27,2 p. 1000.

Pluie : quantité totale en millimètre : 4,5.

Hauteur du niveau de la nappe d'eau souterraine (Distance de la superficie du sol à la surface de l'eau)	Max	149
	Min.....	145
	Moyenne.....	147

		TERRE DE JARDIN		ARGILE		SABLE	
Humidité.....		13 %		14 %		5,5 %	
Nombre des col. de chol. fournies par 0,1 cmc. de terre après l'infection.		50,000		36,000		62,000	
Nombre de col. de chol. fournies par 0,1 cmc. de terre 4 jours apr. l'infection.	à 50 cm.	236,000	Les col. de bact. vulg. sont très rares.	130.000	Les col. de bact. vulgaires sont rares.	224,000	Les col. de bact. vulg. sont très rares.
	à 1 m.	139,000	»	108,000	»	316,000	»

Expérience 2. — Durée de l'expérience, du 12.VIII au 24.VIII.

On avait ajouté à chaque 100 grammes de terre 1 centimètre cube de culture de choléra, sur agar de 2 jours, diluée dans 8 centimètres cubes d'eau.

Température du sol, à 50 cm.....	Maximum.....	23°,1	à 1 m	22°,2	
	Minimum.....	21°.8		21°,8	
	Moyenne.....	22°		22°	

Teneur de l'air du sol en acide carbonique : moyenne à 50 centimètres, 20,6 p. 1000 ; à 1 mètre, 25,8 p. 1000.

Pluie : quantité totale en millimètres : 18,0.

Hauteur du niveau de la nappe d'eau souterraine (Distance de la superficie du sol à la surface de l'eau) : Max ..... 145 ; Min..... 155 ; Moyenne..... 150

	TERRE DE JARDIN	ARGILE	SABLE
Humidité.....	12 °/₀	13,5 °/₀	5 °/₀
Nombre de col. de chol. fournies par 0,1 cmc. de terre après l'infection.	47,000	42,000	53,000
Nombre de col. de chol. fournies par 0,1 cmc. de terre 12 jours apr. l'infection.	à 50 cm. 27,000 — Beaucoup de colonies de bactér. vulgaires.	69,300 — Peu de colonies de bactér. vulgaires.	68,000 — Très peu de colonies de batéries vulgaires.
	à 1 m. 89,500 — Peu de colonies de bactér. vulgaires.	43,000 — Un certain nombre de col. de bact. vulgaires.	58,000 »

Expérience 3. — Durée de l'expérience, du 28.VIII au 18.IX.

On avait ajouté à chaque 100 grammes de terre 1 centimètre cube de culture de choléra, sur agar de 2 jours, diluée dans 8 centimètres cube d'eau.

Température du sol, à 50 cm..... Maximum.... 21°,5 ; Minimum.... 17°,5 ; Moyenne..... 20°,5 — à 1 m. Max..... 21°,1 ; Min..... 19°,1 ; Moyenne. 20°,7

Teneur en acide carbonique de l'air du sol : moyenne à 50 centimètres, 18,7 p. 1000 ; à 1 mètre, 24,9 p. 1000.

Pluie : quantité totale en millimètres : 27.0.

Hauteur du niveau de la nappe d'eau souterraine (Distance de la superficie du sol à la surface de l'eau) : Max ..... 155 ; Min..... 132 ; Moyenne..... 142

	TERRE DE JARDIN	ARGILE	SABLE
Humidité.....	12 °/₀	15,5 °/₀	4,8 °/₀
Nombre de col. de chol. fournies par 0,1 cmc. de terre après l'infection.	64,000	59,000	52,000
Nombre de col. de chol fournies par 0,1 cmc. de terre 21 jours apr. l'infection.	à 50 cm. 0 — Beaucoup de colonies de bactéries vulgaires.	0 — Beaucoup de colonies de batéries vulgaires.	0 — Beaucoup de colonies de bactéries vulgaires.
	à 1 m. 0 »	0 »	0 »

Expérience 4. — Durée de l'expérience, du 20.VIII au 23.IX.

On avait ajouté à chaque 100 grammes de terre 1 centimètre cube de culture de choléra, sur agar de 2 jours, diluée dans 8 centimètres cubes d'eau.

Température du sol,	à 50 cm.	Maximum	22°,7	à 1 m.	Max.	21°,9
		Minimum	16°,9		Min.	16°
		Moyenne	21°,1		Moyenne.	21°,4

Teneur en acide carbonique de l'air du sol : moyenne à 50 centimètres, 17,5 p. 1000 ; à 1 mètre, 23,8 p. 1000.

Pluie : quantité totale en millimètre : 43,0.

Hauteur du niveau de la nappe d'eau souterraine	Max	161
	Min	138
	Moyenne	150

		TERRE DE JARDIN	ARGILE	SABLE
Humidité		13 %	15 %	5 %
Nombre de col. de chol. fournies par 0,1 cmc. de terre après l'infection.		84,000	72,000	63,000
Nombre de col. de chol. fournies par 0,1 cmc. de terre 34 jours apr. l'infection.	à 50 cm.	0 Très grande quantité de colonies de bactéries vulgaires.	0 Très grande quantité de colonies de bactéries vulgaires.	0 Un certain nombre de colonies de bactéries vulgaires.
	à 1 m.	0 »	0 »	0 »

En examinant les résultats fournis par cette seconde série de recherches, on s'aperçoit qu'il n'y a pas eu de différence considérable entre les 3 espèces de terrain et l'on constate : que tant que les bactéries vulgaires contenues en petit nombre dans le sol ne se sont pas notablement multipliées (expérience 1), il y a reproduction, quoique limitée, du bacille cholérique, tandis que plus tard à une augmentation des bactéries vulgaires (expérience 2) correspond une diminution de ce même bacille qui se serait certainement maintenu vivant dans le sol, après sa reproduction, pendant 13 jours. Il résulte, au contraire, des expériences 3 et 4 que l'augmentation considérable des bactéries vulgaires a eu pour corollaire la disparition totale du bacille cholérique en 20 et 30 jours. Dans cette série de recherches, ni la profondeur du terrain, ni sa température, ni la proportion d'acide carbonique n'ont exercé d'influence. Il en résulterait, par contre, que la stérilisation partielle de la terre d'expérience et peut-être le

fait d'avoir été maintenue dans le sol dans des conditions constantes, ont contribué à donner de la lenteur au développement des bactéries vulgaires encore contenues dans le sol et dont le nombre restreint concourt probablement aussi à produire ce résultat.

Quelles conclusions peut-on tirer de ces deux séries d'expériences? Il faut avant tout examiner si la méthode que j'ai suivie reproduisait suffisamment les conditions que les bactéries trouvent dans le sol. En ce qui concerne la première série de recherches, on peut dire que l'extraction des sachets et le mélange, à chaque examen, de la terre qu'ils contenaient, introduisait une condition nouvelle qui ne se rencontre pas parmi les conditions naturelles du sol. Mais ceci perd de sa valeur si l'on se rappelle que dans presque toutes les expériences de la première série, il y avait déjà après 24 heures, une diminution très considérable du bacille du choléra dont on pouvait conclure à sa disparition rapide et totale, ainsi que le prouvent les analyses ultérieures de la terre. Dans les expériences de la seconde série ce fait ne pouvait pas exercer d'influence, puisque les sachets n'étaient extraits qu'une seule et unique fois à la fin de chaque expérience. Une autre objection pourrait être faite : les 3 échantillons de terre étant tous tenus dans le même milieu ambiant, savoir dans des excavations pratiquées dans le sol d'un jardin, on éliminait les différences particulières relatives aux caractères physiques, séparant la terre, l'argile et le sable, et l'on pourrait prétendre par exemple que la plus grande perméabilité d'un terrain sablonneux pourrait le rendre plus apte à la conservation des bactéries pathogènes que ne le sont la terre de jardin et l'argile. Dans notre cas toutefois, il convient de faire observer que les sachets contenant la terre n'étant comprimés par rien et l'air du terrain fraîchement remué pouvant facilement communiquer avec l'air libre, l'importance de l'uniformité du milieu ambiant diminue et disparaît peut-être même complètement.

L'objection la plus grave que l'on puisse faire a trait, sans nul doute, à la modification que l'on fait subir au terrain, soit en le remuant, soit en y ajoutant une certaine quantité de substances nutritives (liquide d'infection). Ici

je puis me référer à ce que j'ai écrit plus haut. J'en retiens que la conséquence du remuement du terrain et de l'adjonction d'un liquide nutritif, ne peuvent avoir qu'une importance partielle et peu notable en tout cas. J'avais cherché en effet à démontrer comment l'influence exercée par l'adjonction à un terrain même non remué, d'un substratum nutritif approprié, suffit pour y produire une augmentation considérable des bactéries qu'il contient. Or, il est indubitable que si une bactérie pathogène et surtout le bacille du choléra pénètre dans un terrain par infiltration ou autrement ce fait sera toujours accompagné d'une infiltration, dans ce même terrain, d'une quantité considérable de matière nutritive, fournissant ainsi l'occasion d'une augmentation des bactéries contenues dans le sol et créant, par cela, une concurrence entre elles et le bacille du choléra à laquelle ce dernier succombera tôt ou tard. Cette circonstance sera d'ailleurs encore favorisée par l'augmentation de l'humidité du terrain, consécutive à la pénétration du liquide infectant (les fèces et l'urine surtout).

Si l'on tient compte des recherches précédemment exposées, et si l'on médite les résultats des expériences faites avec le bacille cholérique dans différents terrains, il me semble permis d'en tirer quelques conclusions, qui conserveront leur valeur au moins pour les conditions dans lesquelles mes expériences ont été faites.

1° Le bacille du choléra quand il pénètre dans un sol riche en bactéries communes, même s'il y trouve des conditions favorables à son existence et à sa reproduction, succombe rapidement dans la lutte qui a lieu entre lui et les bactéries vulgaires, dont le nombre augmente dans la partie infestée du terrain. Cette augmentation est aussi rendue possible dans les couches profondes du sol (dans lesquelles, du reste, les bactéries peuvent se trouver dans un état d'arrêt de reproduction) grâce à l'adjonction de matières nutritives leur convenant, ce qui modifie les conditions du terrain.

2° Lorsque le bacille du choléra pénètre en nombre relativement grand, dans un terrain contenant peu de bactéries vulgaires, non seulement sa conservation, mais même sa reproduction deviennent possibles, jusqu'à ce

qu'il se produise une augmentation des bactéries communes grâce aux matières nutritives qui pénètrent dans le sol en même temps que les bactéries pathogènes.

3° La composition des divers terrains (terre de jardin, argile, sable), pas plus que celle de l'air du sol ou ses caractères physiques, exception faite naturellement de la température et de l'humidité, n'exercent pas une influence notable sur la conservation et la reproduction du bacille cholérique dans la terre.

BIBLIOGRAPHIE

Alfred Jörgensen. — **Die Mikroorganismen der Garungs industrie,** (2e édition, chez Paul Parey, Berlin).

M. Jörgensen vient de faire paraître la deuxième édition de son excellent ouvrage, qui fut accueilli avec beaucoup de faveur il y a trois ans et traduit en Anglais par Dr G. Morris. Vrai manuel conçu d'après un plan bien ordonné, écrit dans un style nerveux et sobre, son livre est un guide sûr pour tous ceux qui désirent se renseigner sur les faits acquis à la science zymotechnique. Il donne les méthodes d'investigation, décrit les divers organismes, bactéries, moisissures, levures, qui jouent un rôle dans l'industrie et résume les propriétés dont ces infiniment petits jouissent. Très précieux pour l'industriel, il est aussi d'une grande utilité à l'homme de science, qui est heureux de rencontrer rassemblés dans quelques pages des matériaux auparavant dispersés, éparpillés dans une foule de revues spéciales et d'ouvrages volumineux.

En ce temps de production scientifique intense, une nouvelle édition d'un traité ne peut être publiée, même après un court intervalle sans recevoir d'importantes additions. Dans ces dernières années, surtout par suite de l'impulsion donnée par les beaux travaux de M. Hansen, le savant directeur du laboratoire de Carlsberg, de nombreux mémoires sur les ferments ont vu le jour et beaucoup de faits nouveaux sont venus enrichir nos connaissances dans ce domaine. M. Jörgensen a étudié avec soin toutes les publications et les a analysées avec précision : aussi le livre qu'il nous présente et dont le manuscrit a été terminé en automne 1889, est-il un résumé fidèle de la science microbiologique appliquée à l'industrie. De plus, l'auteur y a inséré plusieurs observations inédites que MM. Hansen, Holm et Petersen lui ont communiquées : parmi celles-ci, je citerai des expériences de M. Holm, sur la nécessité du contrôle microscopique du point de départ des cultures pures de Saccharomyces, et des recherches de M. Hansen sur les variations des propriétés chez les levures et sur leur tendance à la sécrétion d'une matière gélatineuse.

Le traité sur « les microorganismes des fermentations industrielles » dont le nombre de pages a été porté de 138 à 188 et celui des figures de 36 à 41, est divisé en 6 chapitres : les méthodes, pré-

paration microscopique, culture pure — l'analyse de l'air et des eaux — les bactéries — les moisissures — les ferments alcooliques — les progrès pratiques que la zymotechnie a fait réaliser à l'industrie.

Je signale tout spécialement à l'attention du lecteur le beau chapitre où se trouve exposée avec beaucoup de clarté et de méthode la féconde doctrine de M. Hansen sur les Saccharomyces.

Dans les dernières pages, M. Jörgensen fait une communication qui est de la plus haute importance pour le brasseur : il annonce le plein succès d'essais faits en grand, de fermentation haute avec de la levure pure.

Jusqu'ici le levain provenant d'une seule cellule qui avait produit de si bons résultats pour les bières à fermentation basse, n'avait été essayé qu'isolement dans les brasseries travaillant « *par le haut* » : ces expériences étaient trop peu nombreuses pour permettre d'en tirer une conclusion définitive. Actuellement la question serait entrée dans une phase nouvelle.

Je regrette que l'espace me fasse défaut pour faire une analyse détaillée du livre de M. Jörgensen : elle m'aurait permis de justifier complètement l'appréciation flatteuse que j'en émets et le souhait que je forme de le voir entre les mains de tous les brasseurs et de tous les zymotechniciens.

J. Vuylsteke.

Dr P. Baumgarten. — **Rapport annuel sur les progrès dans l'étude des microorganismes pathogènes**, 4e année, 1888, première moitié.

Comme le dit le titre de l'ouvrage que nous annonçons, ce n'est que la première moitié de son rapport annoncé que M. Baumgarten présente au public. La seconde moitié paraîtra dans 8 semaines environ. En raison du travail toujours croissant qu'impose la rédaction d'un recueil de ce genre, M. Baumgarten s'est adjoint cette fois-ci quelques collaborateurs, choisis parmi les bactériologues les plus distingués que possède l'Allemagne. Le recueil ne perd cependant rien en unité, car les collaborateurs ont suivis la méthode de M. Baumgarten et ce dernier s'est réservé le droit d'ajouter les observations qu'il jugerait nécessaires. Un travail aussi riche — cette première moitié donne des résumés souvent étendus, de 514 mémoires, ou livres — échappe forcément à l'analyse, mais nous sommes convaincus que ceux qui ont eu les premiers rapports entre les mains et qui ont pu constater combien ils deviennent indispensables à tous ceux qui s'occupent de bactériologie, voudront aussi en posséder la suite.

Dans cette première moitié sont analysés : 1° les traités et ravaux sur la microbiologie ; 2° tous les travaux concernant les micrococcus pathogènes et 3° tous ceux relatifs aux espèces bacillaires.

E. F.

PUBLICATIONS RÉCENTES

BACTÉRIOLOGIE

H. Scholl. — Beiträge zur Kenntniss der Milchzersetzungen durch Microorganismen. Contributions à la connaissance des décompositions du lait causées par les microorganismes (*Fortschritte der Medicin*, VII, p. 801).

Dr A. Viquerat. — Einfacher Kupferner Sterilisir-Apparat. Simple appareil de stérilisation en cuivre (*Centralbl. f. Bacteriol. u. Parasitenk.*, VI, p. 602).

Robert Sachsse. — Die Microorganismen des Bodens. Les microorganismes du sol (*Chem. Centralbl.*, 1889, II, p. 169 et 225).

Paul Schubert. — Fadenpilze in der Nase. Mycelium dans la fosse nasale (*Berliner klinische Wochenschrift*, 1889, p. 39).

J. Geppert. — Zur Lehre von den Antisepticis. Contribution à la connaissance des antiseptiques (*Berliner Klin. Wochenschrift*, 1889, n° 36 et 37).

E. Bumm. — Zur Aetiologie der septischen Peritonitis. De l'étiologie de la péritonite septique (*Münchener medicic Wochenschrift*, 1889, n° 42).

E. di Mattei. — Sulla presenza del bacillo tubercolare sulla superficie del corpo dei tisici. Sur la présence du bacille de la tuberculose à la surface du corps des phtisiques (*Annali dell' Istituto d'Igiene sperimentale*, I, 2).

E. di Mattei. — Sull' azione disinfettante dei saponi comuni. Sur l'action désinfectante des savons communs (*Annali dell' Istituto d'Igiene sperimentale dell' Università di Roma*, I, 2).

Behring. — Beiträge zur Aetiologie des Milzbrandes. Contributions à l'étiologie du charbon (*Zeitschrift für Hygiene*, VII, 2, p. 171).

M. Jakowski. — Zur Aetiologie der acuten croupösen Pneumonie. De l'étiologie de la pneumonie croupeuse aigue (*Zeitschrift für Hygiene*, VII, 2, p. 237).

V. Budde. — Neue Constructionen für Dampfdesinfectionsapparate nebst Versuchen über ihre Functionsfähigkeit. Nouvelles constructions pour les appareils de désinfection par la vapeur (*Zeitschrift für Hygiene*, VII, 2, p. 269).

Odo Bujwid. — Ueber die Reincultur des Actinomyces. Sur la culture pure de l'actinomyces (*Centralbl. für Bakteriol. u. Parasitenk.*, VI, 630).

Fabry, Iou. — Klinisches u. Aetiologisches über Favus. Notes cliniques et étiologiques sur le favus (*Archiv. für Dermatologie u. Syphilis*, 1887, 4).

A. Maggiora. — Contributo allo studio dei microfiti della pelle umana normale et specialmenti del piede. Contribution à l'étude des microphytes de la peau humaine normale et spécialement des pieds (*Giornale delle r. società ital. d'igiene*, 1889, n° 5/6, p. 335).

S. Rembold. — Ueber die Cornet'schen Vorschläge zur Bekämpfung der Tuberculose nebst Mittheilung ueber die Untersuchung der Luft auf Tuberkelbacillen. Sur les propositions de M. Cornet relatives aux moyens de combattre la tuberculose et communication sur la recherche des bacilles de la tuberculose dans l'air (*Med. Korrespondenzblatt d. wärtt ärztl. Landesvereins*, 1889, p. 27-28, p. 209-212, 217-220).

E. Kissling (Berne). — Zur Biologie der *Botrytis cinerea*, Biologie du *Botrytis cinerea* (*Dissertation doctorale*, Dresde, chez C. Heinrich).

Dr Ferd. Hueppe. — Ueber den Kampf gegen die Infections-Krankheiten. De la lutte contre les maladies infectieuses (*Berliner Klinische Wochenschrift*, 1889, nos 46-47).

Dr Th. Weyl. — Spontane Tuberculose beim Hunde. Tuberculose spontanée du chien (*Centralbl. für Bakteriol. u. Parasitenk.* VI, p. 689).

Bollinger. — Die Prophylaxis der Tuberculose. La prophylaxie de la tuberculose (*Münchener med. Wochenschrift*, 1889, n° 87).

Banti, Guido. — Pneumococco, Diplococco capsulato? Pneumocoque ou diplocoque à capsule (*La Sperimentale*, LXIII, 1889, p. 138).

C. Schimmelbusch. — Ueber die Ursache der Furunkel. Sur la cause des furoncles (*Archiv für Ohrenheilkunde*, XXVII, 4, p. 252).

Burril, Thomas. J. — A bacteriol disease of corn. Une maladie bactérienne du blé (*University of Illinois, Agricultural Experiment Station*, 1889, Bulletin n° 6, p. 165).

Dr R. Pfeiffer. — Ueber den Vibrio Metschnikoff u. sein Verhältniss Zur Cholera asiatica. Sur les vibrions Metschnikoff et ses rapports avec le choléra asiatique (*Zeitschrift für Hygiene* VII, p. 347).

Dr E. Pfuhl. — Ueber die Desinfection der Latrinen mit Kalk. Sur la désinfection des latrines par la chaux (*Zeitschrift für Hygiene* VII, p. 363).

Dr Nocht. — Ueber die Verwendung von Carbolseifenlösungen zu Desinfectionszwecken. De l'emploi de solutions de savons à l'acide carbolique pour la désinfection (*Zeitschrift für Hygiene*, VII, p. 521).

A. Celli. — Contributo alle conoscenze epidemiologiche sul colera. Contribution aux connaissances sur l'épidémiologie du choléra (*Annali dell'Istituto d'Igiene sperimentale*, I, 1, p. 39).

Dr Joh. Petruschky. — Bakterio-chemische Untersuchungen. Recherches bactério-chimiques (*Centralbl. für Bakteriologie u. Parasitenkunde*, VI, p. 625 et 657).

E. di Mattei et A. Scala. — Azione antisettica dello joloformio e dello jodolo. Action antiseptique de l'iodoforme et de l'iodol (*Annali dell'Istituto d'igiene sperimentale*, I, 1, p. 3)

Tilanus. — Neuere Untersuchungen über die antiseptische Wirkung des Iodoforms. Recherches récentes sur l'action antiseptique de l'iodoforme (*Aus dem hygienischen Institute der Universität. Amsterdam — Münchener med. Wochenschrift*, 1889, nos 32 et 33).

V. Patella. — Ricerche batteriologiche nella pneumonite cruposa. Recherches bactériol. sur la pneumonie croupale (*Bolletino d. reale Accadem. med. di Roma*, 1889, p. 235).

M.-J. Arustamoff. — Zur Frage über die Entstehung der typhösen Pneumonie. Contribution à la question de la pathogénie de la pneumonie typhoïde (*Centralbl. f. Bacteriol. u. Parasitenkunde*, VI, p. 75).

W.-D. Miller. — Die Microorganismen der Mundhöhle. Les microorganismes de la cavité buccale (305 p., avec 112 figures. Leipzig, G. Thieme, 1889).

L'Éditeur-Gérant,
Georges CARRÉ.

Tours. imp. DESLIS FRÈRES, 6, rue Gambetta.

ANNALES

DE MICROGRAPHIE

RECHERCHES PRÉLIMINAIRES SUR LE ROLE DES BACTÉRIES DANS LA MATURATION DU FROMAGE DE L'EMMENTHAL

PAR

Ed. de FREUDENREICH

I. — Historique et rôle physiologique du Bacillus α

La maturation du fromage joue dans l'industrie fromagère un rôle des plus importants. C'est, en effet, pendant la maturation, dénomination sous laquelle on comprend toute la série des modifications que subit le fromage du moment où il a été fait, jusqu'au moment où il est prêt à être livré à la consommation, que s'affirment les qualités ou les défauts du produit. On le comprendra d'autant mieux quand on saura que 40 p. 100 environ des fromages dits de l'Emmenthal, sont condamnés à une dépréciation plus ou moins notable en raison d'une maturation défectueuse. L'industrie a donc un grand intérêt à être renseignée sur la nature intime de ce processus, afin de pouvoir éviter tout ce qui peut l'entraver et rechercher les conditions qui assurent sa réussite. Aujourd'hui, grâce aux travaux de Schulze, Weidmann, Benecke, Röse, Duclaux, Sieber, Schaffer et Bondzynski, nous connaissons dans leurs traits essentiels les phénomènes chimiques qui accompagnent la maturation, ainsi que la constitution chimique du fromage aux différentes périodes de sa maturation. Par contre, nous ne savons encore que fort peu de

chose au sujet de la manière dont se produisent ces modifications et des agents qui la provoquent. On peut cependant affirmer aujourd'hui déjà que les infiniment petits en sont l'élément essentiel, comme ils le sont des fermentations de la bière, du vin, etc. Il existe à cet égard deux ordres de preuve : 1° la présence constante et en nombre si considérable de microorganismes dans le fromage — nous verrons plus tard que l'on trouve en moyenne au minimum plusieurs millions de bactéries par gramme de fromage — qu'il n'est guère possible de considérer leur présence que comme un simple phénomène concomitant sans action sur le processus même ; 2° et c'est là à nos yeux une preuve décisive, il n'y a pas de maturation sans microbes. C'est à M. le Dr Schaffer et au Dr Bondzynski que revient, croyons-nous, le mérite d'avoir les premiers établi ce fait expérimentalement.

Dans leurs travaux sur l'action de la présure et la maturation des fromages (1), ces expérimentateurs avaient établi que le lait cuit, qui, comme on le sait, a perdu la propriété de se coaguler (2), la récupère quand on le fait traverser par un courant d'acide carbonique. Ils soumirent alors 413 k. de lait à une ébullition d'un quart d'heure, y firent passer de l'acide carbonique, et après en avoir coagulé la caséine par la présure, firent du coagulum un fromage qui fut traité comme les fromages ordinaires. Or, ainsi que le démontra l'analyse chimique, sauf en un endroit où la croûte s'était fendue, ce fromage ne mûrit pas, c'est-à-dire qu'il fut impossible d'y déceler les produits de décomposition de l'albumine qui se trouvent dans les fromages dont la maturation est normale. Dans l'expérience citée, la présure n'était pas stérilisée, les auteurs tirent donc du résultat de leur expérience la conclusion que les bactéries contenues dans celle-ci, ne sont pas les agents de la maturation, ainsi que quelques-uns l'ont supposé, et que les microbes qui la produisent

(1) *Landwirthschaftliches Jahrbuch der Schweiz*, I, p. 47, et II, p. 32.

(2) Quelques auteurs affirment, il est vrai, avoir vu quelquefois du lait cuit se coaguler sous l'influence de la présure, mais il s'agit là d'une coagulation anormale et incomplète.

doivent, par conséquent, se trouver dans le lait même, puisque, quand on soumet ce dernier à une cuisson d'un quart d'heure, suffisante pour tuer la plus grande partie des germes, le fromage ne mûrit plus.

Dans un travail plus récent que nous avons brièvement analysé dans ces *Annales* (I, 534), M. Adametz (1) est arrivé, au moyen d'expériences analogues à des résultats confirmant ceux du Dr Schaffer. Seulement, au lieu de stériliser le lait par la chaleur, M. Adametz le fit par les antiseptiques, qu'il choisit parmi ceux qui ne modifient pas les matières albuminoïdes du lait. Le résultat fut que toutes les fois que la dose d'antiseptique était suffisante pour empêcher la vie des bactéries, le fromage ne subissait aucune maturation dans la suite. M Adametz obtint ce résultat particulièrement en employant la créoline et le thymol (20 grammes de thymol pour 2 litres 1/2 de lait, et 4 cmc. de créoline pour 3 litres de lait.

Bien qu'il résulte de ces différents faits que les bactéries jouent un rôle prépondérant dans la maturation du fromage, nous ne savons encore que fort peu de chose sur les espèces microbiennes qui y prennent part. La plupart des expérimentateurs se sont, comme Benecke et Dufour, bornés à constater au microscope la présence de microbes divers dans le fromage.

M. Duclaux est le premier qui ait appliqué à l'étude de cette question les procédés modernes de la bactériologie, et il est arrivé à des résultats des plus intéressants que l'on trouvera consignés dans son classique ouvrage sur *Le Lait*. Il a isolé du fromage de Cantal 7 espèces aérobies (*Tyrothrix tenuis*, *T. filiformis*, *T. distortus*, *T. geniculatus*, *T. scaber*, *T. virgula*) et 3 anaérobies (*T. urocephalum*, *T. claviformis*, *T. catenula*), et cherché, par une étude approfondie de leurs fonctions chimiques, à mettre en évidence le rôle qu'elles paraissent jouer dans la maturation de ce fromage. Disons-le de suite en passant, qu'à nos yeux c'est bien le procédé qui promet d'être fécond en résultats, bien

---

(1) Dr L. Adametz, *Recherches bactériologiques sur la maturation des fromages*. *Landwirthschafliche Jahrbücher*, XVIII, 2, p. 228.

plus que l'étude, souvent méticuleuse, des caractères plutôt extérieurs des microbes dans laquelle semblent se complaire nombre d'auteurs. Quelques mots sur les fonctions biologiques d'une bactérie nous en diront, en effet, plus long sur l'importance d'un microbe, que la description minutieuse de l'aspect macroscopique de ses colonies sur des plaques de gélatine. Malheureusement, tout intéressants que soient les résultats obtenus par M. Duclaux, ils ne nous aident guère dans la recherche des agents microscopiques de la maturation du fromage de l'Emmenthal, sujet qui nous occupe spécialement, car ainsi que j'ai pu m'en convaincre, les *Tyrothrix* divers, décrits par ce savant, ne se trouvent pas, ou seulement exceptionnellement dans ce dernier. Il est d'ailleurs probable que les différents fromages, en raison de la diversité de leur fabrication, diversité qui entraîne aussi une modification du terrain de culture qu'ils offriront plus tard aux bactéries, possèdent chacun son ou ses microbes particuliers.

A ce propos, il ne sera peut-être pas inutile de rappeler brièvement ici en quoi consiste la fabrication du fromage. On sait que ce dernier est constitué par la caséïne du lait. Pour le fabriquer, on commence par faire cailler le lait par la présure (caillette de veau) ; on rompt ensuite le caillé de façon à ce qu'il soit réparti en petits grumeaux, de façon à faciliter l'expulsion du petit lait. Le caillé est alors ou bien mis de suite en moule, pressé et placé dans les caves spéciales où l'on attend sa maturation, ce qui donne la variété des fromages mous ; ou bien, on commence par le soumettre pendant un certain temps à une cuisson modérée (45-60 degrés selon les espèces), avant de le mettre en moule, ce qui donne à la pâte plus de fermeté. Chacun connaît la différence de consistance existant, par exemple, entre le fromage du Cantal et celui de l'Emmenthal ou du Gruyère (fromages cuits). On comprend que des terrains aussi différemment constitués, par conséquent aussi plus ou moins accessibles à l'action de l'oxygène de l'air, puissent appeler l'action de microorganismes différents.

Le travail bactériologique le plus récent sur le fromage est celui, déjà cité, de M. Adametz, qui s'occupe spécialement du fromage de l'Emmenthal et du fromage mou. On

y trouvera une description minutieuse des microbes que l'auteur a rencontrés dans les fromages qu'il a étudiés. Ils sont au nombre de 19, savoir : 6 micrococcus, 5 sarcines et 8 bacilles. En outre, M. Adametz décrit 3 espèces de levures.

M. Adametz a trouvé que le fromage frais, analysé au moment où il vient d'être pressé, contient de 90.000-140.000 bactéries par gramme. Dans le courant de la première semaine les bactéries augmentent de nombre, et surtout les espèces non liquéfiantes, et arrivent à la fin de la période de maturation au chiffre de 850.000 par gramme. Dans le fromage mou, leur nombre serait beaucoup plus considérable, jusqu'à 5.600.000 par gramme. Ce dernier renfermerait aussi des espèces plus variées que le fromage de l'Emmenthal, 11 des 19 espèces décrites par l'auteur, tandis que le fromage de l'Emmenthal n'en contiendrait que 7. Malgré le luxe de détails que l'auteur prodigue au sujet de la morphologie et de l'aspect macroscopique des cultures de ces microorganismes dans différents milieux nutritifs, il est assez difficile de se rendre compte du rôle qu'ils peuvent jouer dans la maturation du fromage, attendu que leurs propriétés chimiques ne sont que peu étudiées. Parmi les microbes trouvés le plus fréquemment dans le fromage se trouvait cependant un bacille particulier, immobile, 3 fois aussi long que large (largeur 0,8-1,0 μ), et qui paraît prendre une part prépondérante dans l'accroissement du chiffre des bactéries, qui se produit pendant la maturation. Il figure sous le nom de bacille XIX. Sur les plaques de gélatine ses colonies ne s'aperçoivent qu'après 5-6 jours sous forme de points à peine visibles. Celles qui sont situées profondément dans l'intérieur sont brun-foncé, celles arrivées à la surface ont un centre granuleux brun-foncé et sont entourées de bords irréguliers, plus clair et finement granulés. Leur croissance est très lente, même au bout de 15 jours elles ne se présentent à l'œil nu que comme de petits points. Les cultures sur plaques auraient une faible odeur de fromage. Dans les cultures par piqûre rien ne croît à la surface même après 6-8 semaines, et la croissance n'a lieu que le long de la piqûre, qui se recouvre de petites granulations blanches : celles-ci augmentent peu à peu et acquièrent

après 3-4 semaines environ la grosseur de la graine de pavots. Les colonies ne se soudent pas et la gélatine n'est pas liquéfiée. Sur gélose il n'y a pas non plus de croissance à la surface, mais elle est plus abondante le long de la piqûre que dans les cultures sur gélatine. Dans le lait stérilisé, la coagulation de la caséine commence, à 35°, déjà après 36 heures et est terminée en 48 heures. La coagulation ressemble à celle que produit la présure et elle ne se redissout plus. A 25° le lait n'est coagulé que le cinquième jour. L'acide lactique formé produit une forte réaction acide.

Dans le cours de mes propres recherches j'ai non seulement étudié différents fromages arrivés à maturité, mais j'ai aussi suivi, pour ainsi dire pas à pas, un fromage pendant toute la durée de sa maturation, seul moyen de voir si celle-ci est constituée par une série de modifications successives dont chacune serait l'œuvre de microbes spéciaux; ou bien si la même ou les mêmes espèces de microorganismes sont présentes et actives depuis le début jusqu'à la fin de ce processus. Pour effectuer les numérations et isoler les microorganismes, je me suis généralement servi de plaques de gélatine (1), en opérant de la manière suivante : avec les précautions usitées en pareils cas on prélève dans l'intérieur d'un morceau de fromage quelques parcelles pesant ensemble 0,2 à 0,3 grammes. On les broie alors dans un petit flacon de culture contenant 5 cm. d'eau stérilisée avec une baguette de verre également stérilisée. Pour faire les plaques de première dilution on répartit cette émulsion à la dose d'une à deux gouttes dans la gélatine; pour celles de seconde dilution, on dilue d'abord l'émulsion, en ajoutant quelques gouttes à 5 cm. d'eau sté-

(1) J'emploie pour la culture des microorganismes du lait et du fromage une gélatine au petit lait que je prépare de la manière suivante. Du lait débarrassé de la crème par une machine centrifuge (on l'obtient dans toute laiterie bien outillée) est chauffé à 35°. On y ajoute un peu de présure (en tablettes) et quand le caillé s'est formé, on exprime le petit lait, que l'on additionne de 1 p. 100 de peptone Chapoteaut, d'environ 0,3 p. 100 de chlorure de sodium et de 10 p. 100 de gélatine. On cuit, on neutralise et l'on filtre plusieurs fois sur de la ouate. La gélatine ainsi obtenue est parfaitement limpide et plus facile à préparer que d'après la méthode de Raskina (voir Hueppe, *Methoden der Bakterienforschung*, 4e édition p. 213).

rilisée et l'on met quelques gouttes de cette dilution dans la gélatine ; on prépare de même une troisième dilution si l'on opère avec un fromage riche en microbes. Les gouttes doivent naturellement être d'une grandeur connue. Pour ma part, je me sers de pipettes effilées de façon à ce que 20 gouttes fassent un centimètre cube. Un simple calcul permet alors d'établir le chiffre des microbes contenus par exemple dans un gramme de substance. Il faut cependant ajouter que les chiffres obtenus restent bien au-dessous de la réalité, car il est difficile d'obtenir une dissociation parfaite des parcelles de fromages. Une grande partie des microbes échappent par conséquent aux recherches quantitatives. Ces dernières n'offrant toutefois qu'un intérêt secondaire, la question a peu d'importance. Malgré les imperfections inhérentes à ce procédé, j'ai obtenu des chiffres beaucoup plus forts que M. Adametz. Celui-ci, en effet, n'a trouvé que quelques centaines de mille de bactéries par gramme, tandis que, dans les numérations que j'ai opérées, je les ai presque constamment trouvées au nombre de plusieurs millions, au moins, par gramme. Ce n'est guère que dans des fromages plus vieux que leur nombre se rapproche de ceux indiqués par M. Adametz. La différence de nos résultats tient probablement à une différence de méthode, car, ainsi que je l'ai dit déjà, avec un procédé plus perfectionné on obtiendrait certainement des chiffres encore plus forts que les miens. Par contre, de même que M. Adametz, je n'ai pas trouvé de différences appréciables entre les parties situées au milieu et celles prises près des bords. Les mêmes organismes s'y trouvent en quantité à peu près égales. Pour favoriser l'éclosion des espèces anaérobies, j'ai aussi tenu un certain nombre de plaques à l'abri de l'air. Je me sers pour cela d'une cloche en verre, munie de deux tubulures latérales et reposant sur un plateau de métal muni d'une gouttière circulaire dont les bords sont distants de 2 centimètres et hauts aussi de 2 centimètres. Les bords de la cloche plongent dans cette gouttière que l'on remplit de paraffine liquide de façon à obtenir une occlusion parfaite. Les plaques ensemencées étant disposées sur le plateau et recouvertes par la cloche, on fait passer par l'une des tubulures garnie de ouate stérilisée, un courant

d'hydrogène, ou ce qui est plus commode encore, de gaz d'éclairage, d'après la méthode de M. Foureur (1). Quand tout l'air a été chassé on ferme hermétiquement la seconde tubulure et l'on évite de fermer complètement le robinet du gaz. De cette façon, même s'il se produisait une fuite de gaz, celui-ci serait toujours remplacé. Pour cultiver les espèces isolées à l'état de pureté, je me sers soit du procédé de Buchner (*Absorption de l'oxygène par un pyrogallate alcalin*, v. t. I de ces *Annales*, p. 187), soit de tubes de gélatine recouverts d'une épaisse couche de paraffine liquide. Dans ce dernier cas, le mieux est de stériliser le tout ensemble à l'autoclave. A 115° tout l'air est chassé, et la gélatine, plus lourde, se prend en refroidissant, sous la couche liquide de paraffine. Je dois avouer, toutefois, que je n'ai jusqu'ici pas trouvé de microorganismes dans le fromage de l'Emmenthal qui soient absolument anaérobies. Quelques-uns préfèrent, il est vrai, l'absence d'oxygène et se développent mieux à l'abri de l'air ; cependant ils ne sont pas tellement sensibles à l'action de l'oxygène qu'ils ne puissent croître sur les plaques faites de la manière ordinaire. Mais leur peu de goût pour l'oxygène s'affirme par leur croissance beaucoup plus prononcée dans l'intérieur des piqûres sur gélatine et dans la profondeur des bouillons qu'à la surface des terrains nutritifs où elle est presque nulle.

Comme M. Adametz j'ai trouvé dans le fromage tout frais les organismes les plus divers ; il ne saurait, du reste, en être autrement puisque le lait qui sert à la fabrication du fromage contient déjà de nombreuses bactéries. Dans un précédent travail (2), j'ai montré que leur chiffre s'élève de suite après la traite à environ 10 à 20.000 par cmc. Le lait qui sert à la fabrication du fromage est beaucoup plus riche en bactéries en raison des nombreuses manipulations qu'il subit du moment où il a été trait, à une distance souvent considérable de la fromagerie, jusqu'à celui où il arrive entre les mains du fromager. J'ai trouvé à cet égard des chiffres variant entre 36.000 et 962.500 par cmc. Ensuite, pendant la prépara-

(1) A. Foureur, *Étude sur la culture des microorganismes anaérobies*, 1899.
(2) V. t. II de ces *Annales*, p. 116.

tion et la cuisson du fromage, les bactéries trouvent l'occasion d'augmenter considérablement de nombre, soit en raison de la température très favorable, pendant une partie de l'opération, à leur accroissement, soit en raison des nombreuses chances d'infections auxquelles le lait reste soumis d'une façon ininterrompue pendant ce temps. En outre, la dissociation des amas de bactéries est favorisée par le fait que le lait est constamment remué, ce qui contribue à augmenter le nombre des colonies qui naissent sur les plaques. Cette augmentation, quoique variable, est cependant constante, aussi ai-je fréquemment trouvé dans le fromage frais un nombre très considérable de bactéries, dans une analyse, par exemple, 1.812.500 par gramme et souvent même plus. J'en ai même quelquefois trouvé plus que que dans le fromage en voie de maturation, ce qui arrivera surtout dans les cas où le lait n'est pas employé dès son arrivée à la fabrication du fromage. Dans les petites fromageries, par exemple, où l'on n'aurait pas assez de lait pour fabriquer 2 fromages par jour, le lait du soir n'est employé à la fabrication du fromage que le lendemain, quand on l'a réuni au produit de la traite du matin. Pendant la nuit, les bactéries ont ainsi une excellente occasion de se multiplier.

C'est surtout au point de vue des espèces microbiennes représentées que les fromages frais diffèrent de ceux en voie de maturation. Dans ces derniers, en effet, la plupart des colonies appartiennent à la même espèce, dans les premiers on trouve les espèces les plus diverses, entre autres beaucoup de colonies liquéfiant la gélatine qui disparaissent presque complètement dans les fromages plus vieux. Cette disparition se produit si rapidement que l'on serait presque tenté d'admettre que les espèces trouvées les premiers jours ne jouent guère qu'un rôle préparatoire, si même elles en jouent un, dans la maturation du fromage. Dans cette étude préliminaire je me bornerai donc à décrire très sommairement les microbes que j'ai trouvé le plus fréquemment dans le fromage frais. Je citerai en première ligne un petit micrococcus donnant sur les plaques des colonies jaunâtres, qui, dans l'intérieur, prennent une teinte brun-foncé, à bords nets et finement granulés. Ce micrococcus forme de longues chaînettes en forme de strepto-

coccus et ne liquéfie pas la gélatine. Un autre micrococcus qui ne liquéfie pas non plus la gélatine, donne des colonies blanchâtres à la surface de la gélatine, à bords irréguliers et d'aspect mamelonné. Un troisième micrococcus ovale ne liquéfiant pas non plus la gélatine et appartenant à la classe des ferments lactiques y est aussi assez souvent représenté. On trouve très fréquemment aussi des colonies liquéfiant la gélatine et appartenant à trois espèces diverses de micrococcus. En outre, on y retrouve aussi des bacilles du genre des bacilles du foin et de celui de la pomme de terre, liquéfiant la gélatine avec rapidité. Bref, dans le fromage frais, il n'y a pas encore prédominance absolue d'une espèce bactérienne. L'analyse des fromages en voie de maturation donne des résultats très différents, que je ne puis mieux décrire qu'en faisant suivre ici un extrait de mon registre de laboratoire concernant les analyses régulières, faites à des intervalles de 8 à 15 jours, du fromage dont j'ai étudié la maturation.

Fromage âgé de 9 *jours.* — Ce fromage donne encore sur les plaques un grand nombre de colonies appartenant à des espèces fort diverses. Cependant on y voit déjà apparaître un microorganisme particulier, un bacille court. Ce bacille que l'on retrouvera plus tard reçoit le nom de bacille α.

Fromage de 18 *jours.* — La moyenne des numérations faites donne environ 3 millions de bactéries par gramme de fromage. Le bacille α est maintenant devenu prédominant. Une plaque de deuxième dilution par exemple donne 150 colonies composées uniquement de ce bacille. Les plaques de première dilution ne donnent autant que le rapprochement des colonies permet d'en juger, à peu près que des colonies du même microorganisme. Il n'y a pas de différence appréciable entre les morceaux pris au centre et ceux pris plus près du bord. Dans les deux, on trouve en outre du bacille α, ci et là quelques colonies de bactéries diverses. Le micrococcus ovale dont il a été parlé à l'occasion du fromage frais s'y retrouve encore. Les colonies liquéfiantes des micrococcus si fréquentes dans le lait et le fromage frais ont presque entièrement disparu.

Fromage âgé de 24 *jours.* — Moyenne des numérations : 3 à 4 millions de bactéries par gramme. La presque totalité des colonies est composée du bacille α. Ainsi des plaques chargées de quelques cents à quelques mille colonies contiennent 2 à 15 colonies d'espèces diverses, parmi lesquelles quelques colonies liquéfiantes, tandis que tout le reste sont des colonies du bacille α. Sur quelques plaques on

trouve un bacille, répondant tout à fait à la description d'un bacille trouvé quelquefois par M. Adametz et appelé par lui bacille XVIII. Ce bacille ne semble toutefois pas jouer de rôle important dans la maturation, car plus tard, je ne l'ai retrouvé que deux fois dans ce fromage, et jamais encore dans d'autres.

Fromage âgé de 30 *jours.* — Moyenne des numérations : environ 8 millions de bactéries par gramme. On ne trouve en quantité appréciable que le bacille α. Les autres microorganismes deviennent très rares, quelques-uns au plus par plaque. Ci et là une colonie fluidifiant la gélatine. Une plaque, faite avec l'entourage d'un trou naissant, ne donne absolument que le bacille α. Parmi les microorganismes appartenant à d'autres espèces, les uns ont déjà été rencontrés, les autres se voient pour la première fois, mais comme précédemment aucune régularité dans leur répartition. Une plaque contient par exemple 2 à 3 colonies liquéfiantes ; une autre, une colonie de micrococcus, etc., et il semble permis d'admettre qu'il s'agit là de bactéries déposées à divers endroits du fromage pendant sa fabrication et capables de se revivifier sur les plaques sans qu'elles aient toutefois proliféré d'une manière appréciable dans le fromage.

Fromage âgé de 37 *jours.* — Pas de différence en ce qui concerne les espèces microbiennes avec le fromage de 30 jours. C'est toujours le bacille α qui prédomine d'une façon absolue. Le bacille XVIII d'Adametz se voit sur une plaque.

Fromage âgé de 47 *jours.* — La maturation suit son cours normal. Ce fromage est très semblable à celui de 37 jours. Moyenne des numérations effectuées : 1.950.000 par gramme. A part quelques colonies liquéfiantes ou chromogènes, les plaques ne donnent que le bacille α. Sur une plaque on trouve aussi le bacille XVIII d'Adametz.

Fromage âgé de 52 *jours.* — Moyenne des numérations : 8.975.000 par gramme. Comme précédemment la presque totalité des colonies trouvées sur les plaques se compose du bacille α. Quelques plaques ne contiennent que ce microorganisme, d'autres renferment aussi de 2 à 15 colonies d'autres espèces, parmi lesquelles aussi des colonies liquéfiantes. Les plaques de 2e dilution contenaient 130 et 700 col., celle de 1re dilution 12 et 15.000.

Fromage âgé de 64 *jours.* — Moyenne des numérations : 4.500.000 par gramme. Les trois plaques qui ont été faites ne donnent que le bacille α.

Fromage âgé de 73 *jours.* — Moyenne des numérations : 1.500.000 bactéries par gramme. Une plaque ne donne que le bacille α. La seconde contient, en outre, un certain nombre de micrococcus.

Fromage âgé de 101 *jours.* — Moyenne des numérations : 2.500.000 bactéries par gramme. La grande majorité des microorganismes se compose encore du bacille α. Cependant l'une des

plaques donne un certain nombre de micrococcus ovales, ne caillant pas le lait, et plusieurs colonies d'un bacille long, dont les cultures périssent toutefois avant d'avoir pu être étudiées.

Fromage âgé de 126 *jours.* — Moyenne des numérations : environ 4 millions de bactéries par gramme. Ne donne que le bacille α.

Fromage âgé de 128 *jours.* — Moyenne des numérations : 3.375.000 bactéries par gramme. Donne le bacille α, avec quelques colonies d'un autre bacille que l'on ne retrouve plus dans la suite.

Fromage âgé de 137 *jours.* — Une numération donne 2.950.000 bactéries par gramme. Les plaques ne contiennent absolument que le bacille α.

Fromage âgé de 155 *jours.* — En moyenne 1.662.500 bactéries par gramme. Toutes les colonies sont composées du bacille α. Le fromage étant parvenu à ce moment à une maturation parfaite cesse d'être soumis à des analyses régulières.

Dans des fromages de provenance diverse, j'ai également fréquemment trouvé le bacille. Je fais suivre ici quelques notes de laboratoire en faisant foi.

Fromage de l'École agricole de la Rütti, âgé de 3 *mois.* — Moyenne des numérations : 1.287.500 bactéries par gramme. A part quelques colonies (15) d'un micrococcus, on ne voit que des colonies du bacille α. Point de colonies liquéfiantes.

Fromage de l'École agricole de la Rütti, âgé de 5 *mois environ.* — Moyenne des numérations : 2.250.000 par gramme. En majeure partie des colonies du bacille α, mais aussi un très grand nombre de colonies d'un micrococcus caillant le lait.

Fromage de l'École agricole de la Rütti, âgé de 4 *mois environ.* — Moyenne des numérations : environ 3.000.000 de bactéries par gramme. Rien que des colonies du bacille α, sauf une colonie d'un bacille allongé.

Fromage de l'École agricole de la Rütti, âgé de 2 1/2 *mois.* — Moyenne des numérations : 2.675.000 par gramme. La majeure partie des colonies est composée du bacille α, il y a cependant un certain nombre de grosses colonies jaunes d'un micrococcus caillant le lait.

Fromage acheté chez le marchand, probablement assez âgé. — Moyenne des numérations : 70.000 par gramme. La majeure partie se compose d'un bacille très semblable au bacille α, quoique un peu plus gros, les inoculations subséquentes étant restées stériles, il ne fut pas possible de déterminer avec certitude s'il s'agissait, en effet, d'une espèce différente ou peut-être seulement d'une variété du bacille α.

Fromage de Gruyère, probablement assez âgé. — Très peu de

colonies, parmi lesquelles un bacille ressemblant au bacille α. Le manque de temps empêche de l'étudier à fond.

Fromage de l'École agricole de la Rütti, âgé de trois mois environ, et assez défectueux. — Le fromage se brise trop facilement; environ 2.834.000 bactéries par gramme. L'espèce prédominante est un micrococcus, à côté duquel on trouve cependant un certain nombre de colonies du bacille α.

Fromage mal fermenté, goût amer, de la fromagerie du village de Diesbach. — Moyenne des numérations : 9.650.000 bactéries par gramme. On y trouve surtout un micrococcus ovale, mais aussi un assez grand nombre de colonies du bacille α.

Fromage sain de la même provenance. — 7.000.000 de bactéries par gramme : le bacille α s'y rencontre, mais pas à l'état de pureté absolue.

Dans d'autres fromages au contraire, sains ou malades, le bacille α, faisait défaut, et était remplacé par des micrococcus. Mais, dans ces cas, il y avait aussi toujours prédominance absolue en micrococcus sur les autres rares espèces que l'on voyait éclore sur quelques plaques. Un fait à noter, en outre, est que toutes ces espèces de micrococcus que nous n'étudions pas dans le présent mémoire, présentaient une propriété que l'on retrouve dans le bacille α, celle d'être capables de faire cailler le lait stérilisé par l'acide qu'elles produisent. Il semblerait donc que les ferments lactiques, et parmi eux surtout le bacille α, jouent un rôle important dans la maturation du fromage.

Des numérations que nous avons effectuées, il se dégage aussi ce fait, observé par M. Adametz, que pendant les premières semaines de la maturation le nombre des bactéries augmente, pour diminuer peu à peu dans la suite. Dans mes recherches, le chiffre le plus élevé a été fourni par le fromage de cinquante-deux jours. Dans les fromages plus vieux tels que ceux achetés chez le marchand, le nombre des bactéries est beaucoup moins considérable, et ne paraît guère s'élever au-dessus d'une centaine de mille par gramme. Dans un cas je n'en ai même trouvé que 7.500.

Je n'ai pas trouvé, par contre, que le nombre des colonies liquéfiantes augmentât avec l'âge, ainsi que M. Adametz dit l'avoir remarqué.

Bien que les résultats que j'ai obtenus, ainsi qu'on le verra à la fin de ce mémoire, en fabricant des fromages

d'expérience, semblent indiquer, d'autre part, que le bacille α est incapable, à lui seul, de produire la maturation du fromage, il m'a paru utile, en raison de sa présence si fréquente dans les fromages, de commencer par une étude un peu plus détaillée de ce microorganisme en tout cas intéressant à beaucoup d'égards.

II. — Morphologie du bacillus α

Sur les plaques de gélatine le bacille α croît lentement; au bout de quelques jours on aperçoit dans la gélatine des petits points à peine visibles à l'œil nu. Examinées à un faible grossissement et éclairées par en haut, ces colonies paraissent blanc-jaune, en général rondes avec des bords lisses. Éclairées par le miroir, avec un diaphragme moyen elles prennent un aspect blanchâtre sont granuleuses et rappellent l'aspect d'un écheveau de soie tordu. Sur les plaques largement ensemencées où les colonies se gênent mutuellement dans leur croissance il ne se produit aucun changement dans la suite. Sur les plaques moins encombrées les colonies deviennent plus grosses, sont jaune-brun et la granulation ne reste bien visible que sur les bords. A la surface de la gélatine, les colonies sont jaune-clair, granuleuses et à contours irréguliers. Dans les cultures par piqûre, le bacille α croît bien le long de celle-ci, mais à peine à la surface: Suivant que l'ensemencement a été plus riche ou plus pauvre l'aspect de la piqûre peut différer notablement. Dans le premier cas toute la piqûre est revêtue d'un épais enduit blanchâtre qui s'élargit dans la suite; dans le second cas la culture peut ne former qu'une série de gouttelettes. Les préparations que l'on fait des colonies sur gélatine et que l'on colore par exemple avec le violet de méthyle ou la fuchsine montrent un petit bacille court, long d'environ 1μ et un peu moins dont les bouts sont plutôt arrondis. On voit aussi des individus presque ovales. Ils sont généralement par deux et plus rarement en chaînettes. Celles-ci se voient cependant assez souvent dans de vieilles cultures. Deux articles forment fré-

quemment un angle, ce qui peut donner l'apparence d'un bacille courbe quand ils ne sont pas dans un plan horizontal. On peut aussi les colorer d'après le procédé de Gram. Dans le bouillon de peptone, cet organisme ne croît pas, ou seulement très mal ; il y croît au contraire très bien quand on l'additionne de 8-10 p. 100 de sucre de lait. Il croît même dans un bouillon chargé de 20 p. 100 de sucre de lait. Dans ce milieu les bâtonnets sont le plus souvent en chaînettes assez longues et l'on constate nettement les mouvements que les articles font pour arriver à se séparer. Ils paraissent également doués d'un mouvement de locomotion mais lent et de nature à échapper à un examen peu prolongé, surtout dans les vieilles cultures. Les mouvements se voient bien surtout dans les cultures fraîches sur gélose. Ils croissent également très bien dans le lait filtré à la bougie Chamberland et y forment aussi de longues chaînettes. Dans les milieux liquides, la longueur des bâtonnets paraît un peu moindre que dans les cultures sur gélatine ; on remarque déjà le second jour (à 35°) des corpuscules brillants qui semblent être des spores. Ces corpuscules se voient généralement aux deux bouts, quelquefois aussi au milieu. Toutefois, tant dans les jeunes cultures que dans les vieilles, ils se colorent comme le reste du corps du bacille et je n'ai pas non plus réussi à les colorer isolément comme on le fait pour les spores. Il semble donc douteux qu'il s'agisse là de véritables spores, d'autant plus que ce microorganisme ne semble pas doué d'une résistance très considérable. Cultivé sur gélose, ce bacille ne se développe bien que dans la piqûre ; à la surface, la culture se voit à peine et est très peu fournie. Sur ce milieu il forme aussi des chaînettes. Je l'ai aussi vu croître sur pomme de terre, mais la culture est presque invisible comme celle du typhus. Sur ce milieu les bacilles croissent 2 par 2 et forment rarement de longues chaînettes.

En général, bien que se cultivant sans être complètement à l'abri de l'air, le bacille « montre une préférence marquée pour les milieux dépourvus d'oxygène car il croît de préférence dans l'intérieur des piqûres et dans le fond des ballons de bouillons sucrés. De même, il croît mieux dans un ballon profond, rempli d'une grande

quantité de liquide, 100-300 grammes, que dans un petit ballon de culture, où le liquide est plus accessible à l'action de l'oxygène. Dans le vide et dans les ballons dont on a chassé l'air par du gaz d'éclairage, il se développe énergiquement; il rentrerait ainsi dans la classe des êtres facultativement aérobies, quoique étant de nature surtout anaérobie.

La température qui convient le mieux au bacille α est celle de 30-37° environ. A cette température, ensemencé dans du bouillon additionné de sucre de lait, la croissance est très visible le lendemain déjà. Il se forme un dépôt au fond du vase, mais les premiers jours surtout, ce dépôt envoie des prolongements le long des parois et dans le bouillon sans toutefois que le trouble devienne uniforme. Plus tard le dépôt tombe au fond du ballon et le bouillon est absolument limpide. A 25° la croissance est un peu retardée, mais visible déjà après 24 heures. A 16-18° ce n'est guère qu'après 48 heures que l'on observe la croissance. A 10-12° il y a encore de la croissance, mais elle est beaucoup plus lente à se produire.

La première question qui se pose est celle-ci: le bacille α trouvé fréquemment dans des fromages de l'Emmenthal est-il identique avec un microorganisme déjà connu? En particulier ne serait-il pas le bacille XIX que M. Adametz a si souvent rencontré sur ses plaques. Ceci ne me semble toutefois pas être le cas. Le bacille de M. Adametz est large de 0,8-1 μ et 3 fois aussi long, tandis que mon bacille α dépasse rarement une longueur de 1 μ. Ensuite M. Adametz décrit ses colonies dans la profondeur de la gélatine comme brun-foncé à leur début; celles du bacille α dans ce cas sont blanchâtres. Ce dernier, enfin, est mobile, d'une façon peu marquée, il est vrai; le bacille XIX de M. Adametz est immobile. Ajoutons encore que M. Adametz a constaté une odeur de fromage sur ses plaques. Sur celles ensemencées avec le bacille α je n'ai jamais remarqué rien de pareil, soit que mon odorat le cède en finesse à celui de M. Adametz, soit que le bacille α ne dégage pas ce parfum caractéristique. Il ressemblerait davantage au ferment lactique; nous verrons que le bacille α appartient à cette classe de microorga-

nismes — décrit par M. Hueppe sous le nom de bacille de la fermentation lactique. Mais il s'en distingue par la façon dont il se comporte vis-à-vis de l'oxygène ; d'après M. Hueppe le bacille de la fermentation lactique a besoin d'un peu d'oxygène pour produire une fermentation lactique ; le bacille α est au contraire plus actif en l'absence totale d'oxygène. Jamais non plus ce dernier ne forme à la surface de la gélatine les épais gazons qu'y produit le microorganisme décrit par M. Hueppe (1). Il est cependant possible que cette bactérie ait déjà été rencontrée par un expérimentateur, mais n'en ayant pas trouvé jusqu'ici une description qui lève tous les doutes, je l'appellerai provisoirement bacille α du fromage.

Habitat du bacille α. — La présence fréquente du bacille α dans le fromage fait supposer que ce microorganisme se trouve habituellement dans le lait. Toutefois, je n'ai pas encore réussi à l'isoler avec certitude des nombreuses plaques que j'ai eu l'occasion d'ensemencer avec ce liquide. Je ne l'ai pas non plus isolé du fromage frais. Il semble donc qu'il lui faille quelques jours pour arriver à se multiplier dans le fromage de façon à prendre le dessus sur les autres microorganismes qui s'y trouvent au début et qu'il n'est pas non plus très abondant dans le lait frais. Il devient alors naturellement difficile de retrouver ses colonies au milieu de celles des nombreux microbes toujours présents dans le lait, parmi lesquels on trouve beaucoup d'espèces liquéfiant la gélatine avant que celles du bacille α aient eu le temps de se former. J'ajouterai encore que les colonies du bacille α n'ont rien qui les distingue facilement. L'aspect, notamment des colonies arrivées à un certain développement, est celui de maintes colonies bactériennes.

Résistance à la chaleur. — Le bacille α supporte bien des températures assez élevées. Exposé à 50° et 60° pendant une 1/2 heure, il a crû parfaitement. Des ballons soumis pendant 5, 10 et 15 minutes à la température de 70° et 80° se sont encore montrés capables de fécon-

(1) Fraenkel, *Grundriss der Bakterienkude*, p. 178.

der du bouillon neuf. A 90° les résultats sont plus incertains. Après 5 minutes, les deux ensemencements pratiqués avec la culture portée à cette température sont restés stériles; après 10 minutes, un ensemencement, sur deux qui avaient été faits, s'est montré fécond, mais avec un retard. Après 15 minutes plus aucune croissance. Ceci montre qu'à 90° le bacille α est généralement tué; toutefois quelques exemplaires isolés pourraient supporter cette température jusqu'à 10 minutes. La température de 100° s'est toujours montrée mortelle, déjà après 5 minutes, et même une ébullition de quelques secondes semble suffire pour le tuer.

Résistance aux agents chimiques. — Je n'ai étudié que l'action de l'acide phénique à 5 p. 100 et du sublimé à 0,1, 0,5 et 1 p. 1000. De petits morceaux de papier joseph imbibés d'une culture fraîche étaient plongés dans les solutions antiseptiques pendant 2, 3, 5, 10, 15, et 60 minutes et 24 heures. Le bacille α ne s'est pas montré très résistant. Après un séjour de 2 minutes dans l'acide phénique à 5 p. 100 il a crû dans l'un des deux ballons inoculés. Il a supporté le sublimé à 0,1 p. 1000 3 minutes. Le sublimé à 0, 5 p. 1000 semble l'avoir tué même après 1 minute, car rien n'a crû, cependant l'un des deux ballons ensemencés avec des papiers ayant séjourné 1 minute dans le sublimé à 1 p. 1000 a encore donné une culture. Il semble donc que parfois de rares individus arrivent à supporter cette concentration pendant 1 minute.

Résistance à la sécheresse. — Le bacille α semble doué de fort peu de résistance à l'égard de la dessication, en tout cas au moins en présence de l'oxygène. De petits morceaux de papier joseph imprégnés d'une culture fraîche et desséchés ne donnaient, inoculés dans du bouillon neutre plus jamais lieu à aucun développement après 48 heures.

Durée des cultures. — Cultivé dans de petits ballons, le bacille α perd rapidement la propriété de se revivifier dans du bouillon frais. Il est rare qu'après 8 à 10 jours on le trouve encore vivant. La cause en est certainement due à l'acidité des cultures, mais l'oxygène de l'air y est sans doute aussi pour une bonne part, car dans des ballons pro-

fonds et bien remplis dans lesquels l'oxygène a moins facilement accès et dans des cultures privées d'oxygène il se maintient plus longtemps vivant. Dans ces conditions je l'ai trouvé encore inoculable après 6 semaines. Je n'ai pas poussé l'expérience plus loin. Ces résultats joints à ceux obtenus dans les expériences sur l'action de la dessication, semblent indiquer que ce bacille α supporte mal l'oxygène. J'ai aussi remarqué qu'après avoir été cultivé dans du bouillon sucré il prend moins facilement dans la gélatine.

Sécrétion de présure. — Plusieurs des microbes, isolés par M. Duclaux, du fromage du Cantal sont d'énergiques producteurs de présure. Il m'a semblé intéressant de rechercher si cette particularité appartient aussi au bacille α. Pour cela, une culture de 8 jours fut ajoutée à du lait tenu à 35° à des doses variant de 1 centimètre cube de culture p. 100 de lait à 10 centimètres cubes de culture p. 20 de lait. L'expérience fut faite 2 fois, mais jamais même après 7 heures il n'y eut la moindre trace de coagulation. J'en conclus que le bacille α ne produit pas de présure.

Fermentation lactique produite par le bacille. — J'ai déjà dit que le bacille α appartenait à la classe des ferments lactiques. C'est en effet une de ses propriétés les plus marquées.

Inoculé dans du lait stérilisé il le coagule, grâce à l'acide lactique produit, après un temps variable suivant la température à laquelle on expose le lait, et aussi suivant la dose de l'ensemencement. Le temps qu'il faut pour produire cet effet peut ainsi varier entre 36 heures et quelques jours. Ensemencé avec 1 goutte d'une culture de 3 jours, le lait s'est caillé dans une expérience à 37° en 48 heures, à 22°-25° 4 jours, à 18 en 7 jours, à la température de la chambre à 12-15° il n'y avait rien de visible au bout de 10 jours, mais mis alors à l'étuve, le lait se cailla le lendemain. Dans de petits ballons le coagulum est parfaitement homogène et le lait se prend tout d'une pièce. Dans de gros ballons la surface paraît moins solide. Dans la suite le coagulum ne se redissout pas, ce qui indiquerait l'absence de sécrétion du ferment spécial appelé caséase par M. Duclaux. Cette coagulation du lait est le résultat d'une véritable fermentation lactique par laquelle le sucre de lait

est décomposé en acide lactique ou plutôt, comme nous le verrons plus tard, en acide paralactique et en acide carbonique. La production de ce dernier ne s'accompagne toutefois pas, dans la fermentation lactique provoquée par le bacille α en présence de l'oxygène, d'un dégagement de bulles gazeuses dans le bouillon ou dans la profondeur des cultures en piqûres sur milieux solides. Pour constater la présence de l'acide carbonique je me suis servi d'un procédé imaginé par M. le Dr Schaffer, chimiste cantonal à Berne, pour déceler rapidement la quantité d'acide carbonique contenu dans une atmosphère donnée. Ce procédé est basé sur le fait que l'acide carbonique fait disparaître les taches rouges que produit sur du papier joseph spécial imprégné de phénolphtaléine une solution d'eau de chaux diluée (30 centimètres cubes de la solution neutralisent 1 centimètre cube d'un acide normal au dixième). Plus l'air est chargé d'acide carbonique, plus la tache disparaît rapidement. Ainsi dans une atmosphère normale (0,3 p. 1000 d'acide carbonique), la tache disparaît en 20 minutes. Douze minutes correspondent à 0,7 p. 1000 ; 8 minutes à 1,0 p. 1000 ; 6 minutes à 1,5 p. 1000 ; 5 minutes à 2 p. 1000 ; 4 minutes à 3p. 1000 ; 3 1/2 minutes à 4p. 1000 ; 3 minutes à 5 p. 1000, etc. Ce procédé excessivement commode pour un dosage rapide permet aussi de constater sans peine aucune un dégagement d'acide carbonique dans une culture microbienne. Il suffit pour cela de faire une culture, en chassant tout l'air du récipient et après quelque temps d'introduire, suspendu à un fil dans la partie supérieure du ballon, un morceau de papier préparé à la phénolphtaléine et sur lequel on a fait tomber une goutte d'eau de chaux et de maintenir le ballon bien bouché. On voit alors en combien de minutes la tache disparaît. Dans les cultures du bacille α la tache disparaît avec une rapidité correspondant à une atmosphère très chargée d'acide carbonique. Le second phénomène concomitant de la fermentation lactique est la production d'acide lactique. Cette fonction physiologique à laquelle se rattache la disparition du sucre méritera d'être étudiée avec soin chez les différents ferments lactiques, travail que nous espérons pouvoir entreprendre une fois, car l'énergie avec laquelle le sucre est

décomposé sera un criterium plus sûr pour la différentiation des espèces que la description minutieuse des caractères microscopiques des cultures, caractères éminemment variables, selon les modifications apportées aux terrains nutritifs. Pour que la fonction physiologique donne un criterium certain il est toutefois indispensable d'opérer dans des conditions toujours identiques. Ainsi une légère différence de température, l'ensemencement plus ou moins riche, l'âge des cultures qui servent à l'inoculation et d'autres facteurs encore peuvent modifier assez profondément les résultats de la fonction physiologique. C'est ainsi qu'une culture ensemencée avec un ferment vieux et affaibli produira en 48 heures moins d'acide lactique qu'une culture inoculée avec un ferment frais ou tenu à une température plus favorable. La différentiation de deux espèces de ferments par la mesure de leur énergie fermentative restera donc toujours une des tâches les plus difficiles du bactériologiste et exigera en tout cas que les différents expérimentateurs opèrent dans des conditions absolument identiques.

Dans l'expérience résumée dans le tableau suivant, les ballons, contenant un bouillon artificiel préparé avec 2 p. 100 de peptone, 5 p. 100 de sucre de lait et 0, 3 p. 100 de chlorure de sodium, étaient ensemencés avec une goutte de culture fraîche chacun et tenus par séries aux températures de 18°, 25° et 37°. Pour le dosage de l'acide je me suis servi du procédé de Soxhlet-Henkel. On ajoute à 50 centimètres cubes de culture 2 centimètres cubes d'une solution alcoolique de phénolphtaléine et l'on titre avec la solution de soude caustique normale au quart. L'apparition de la couleur rouge n'est pas toujours facile à saisir dans un bouillon jaune-brun. C'est ce qui explique le fait que l'on ne constate parfois entre deux dosages qu'une très légère différence, tandis qu'avant et après elle est plus marquée. En regard du nombre de centimètres cubes de la solution de soude caustique employés pour effectuer le titrage, j'ai donné la quantité d'acide lactique qui y correspond (0,0225 gr. d'acide lactique par centimètre cube de la solution de soude caustique au quart).

Cultures à 18°	Acide lactique en grammes	Cultures à 25°	Acide lactique en grammes	Cultures à 37°	Acide lactique en grammes
Ap. 1 jour	2. (0,045)	Ap. 1 jour	2.7 (0,061)	Ap. 1 jour	4. (0,09)
» 2 »	3.8 (0,085)	» 2 »	5.5 (0,124)	» 2 »	5.5 (0,124)
» 3 »	6.2 (0,139)	» 3 »	8.2 (0,184)	» 3 »	6. (0,135)
» 4 »	6.5 (0,146)	» 4 »	8.4 (0,189)	» 4 »	7.4 (0,166)
» 5 »	7.6 (0,171)	» 5 »	9.5 (0,214)	» 5 »	8.5 (0,191)
» 6 »	7.8 (0,175)	» 6 »	9.6 (0,216)	» 6 »	8.4 (0,189)
» 7 »	8.6 (0,193)	» 7 »	9.7 (0,218)	» 7 »	8.6 (0,193)
» 8 »	9.5 (0,214)	» 8 »	10.4 (0,211)	» 8 »	9. (0,202)
» 9 »	9.5 (0,214)	» 9 »	10.7 (0,241)	» 9 »	9.4 (0,211)
» 10 »	9.9 (0,223)	» 10 »	10. (0,225)	» 10 »	9.8 (0,220)
» 11 »	9.7 (0,218)	» 11 »	9.9 (0,223)	» 11 »	9.7 (0,218)
» 12 »	—	» 12 »	10.7 (0,241)	» 12 »	9.8 (0,220)
» 13 »	10.3 (0,232)	» 13 »	11.1 (0,252)	» 13 »	10.5 (0,236)
» 14 »	10.7 (0,241)	» 14 »	11.2 (0,245)	» 14 »	11. (0,247)
» 15 »	10.6 (0,238)	» 15 »	11.3 (0,254)	» 15 »	11.7 (0,263)
» 16 »	— —	» 16 »	—	» 16 »	—
» 17 »	11. (0,247)	» 17 »	12. (0,27)	» 17 »	12. (0,27)
» 18 »	—	» 18 »	—	» 18 »	—
» 19 »	11.2 (0,252)	» 19 »	12.5 (0,281)	» 19 »	14,8 (0,333)

Pour être ramenés à un litre, les chiffres donnés pour la production d'acide lactique devront naturellement être multipliés par 20, puisque l'analyse ne portait que sur 50 centimètres cubes de culture. Ce tableau montre clairement l'influence de la température. A 18° la production d'acide est plus lente surtout pendant les premiers jours, à 37° elle débute plus fortement qu'à 25°, mais elle se ralentit dans la suite et les ballons tenus à 25° accusent presque toujours une proportion plus forte d'acide. Pour caractériser l'énergie du bacille α on peut dire qu'il produit dans un litre de bouillon artificiel chargé de 50 grammes de sucre de lait en 24 heures 1 gr. 80 d'acide à 37° et 1 gr. 22 à 25°. Après 48 heures la production est de 2,48 grammes à 35° et à 37°. A partir de ce jour la production augmente journellement d'une façon graduelle pour arriver environ à 6 grammes en 19 jours. Dans des cultures plus vieilles je n'ai guère trouvé davantage et je n'ai jamais dépassé 15 centimètres cubes de la solution de soude caustique, pour le titrage. En général, on peut admettre que le maximum se trouve entre 13 et 15 centi-

mètres cubes, ce qui équivaut à 5, 85 et 6,75 grammes d'acide lactique par litre. Le bacille z serait ainsi arrêté dans son développement quand il a produit environ 6 grammes d'acide paralactique par litre de bouillon.

En même temps que se forme l'acide paralactique, il y a disparition du sucre dans les bouillons de culture. Voici le résultat d'une expérience faite à 30° avec du bouillon contenant 10 p. 100 de sucre de lait :

	Quantité d'acide formé par litre	Sucre disparu par litre
Après 24 heures	1,12 gr.	13,4 gr.
» 2 jours	2,92	19,5
» 3 »	4,50	22,5
» 4 »	4,95	24,1
» 5 »	5,17	25,9
» 7 »	5,62	26,8
» 10 »	5,85	27,6
» 15 »	6,30	29,3

Le Dr Sieber a bien voulu étudier dans le laboratoire de M. le professeur von Nencki plus particulièrement la fermentation que le bacille z fait subir au sucre de lait. Voici les notes que je dois à son extrême obligeance :

Le 2 janvier 1890, 300 centimètres cubes de bouillon de bœuf additionné de 30 grammes de sucre de lait et de 15 grammes de carbonate de chaux sûrement stérilisé, sont inoculés avec le bacille z, et après en avoir chassé l'air par de l'acide carbonique, mis à l'étuve à 37°,5. L'accès de l'air était empêché par une fermeture hydraulique au mercure. Déjà le jour suivant et encore pendant quelques jours il y eut un vif dégagement de gaz, qui cessa peu à peu. Après 10 jours on ne voyait presque plus de bulles gazeuses, l'expérience fut alors arrêtée pour étudier la décomposition du sucre de lait. A l'ouverture du ballon on constata d'abord la pureté absolue de la culture. Le liquide avait une odeur prononcée de lait aigre. Deux tiers du sucre de lait étaient restés intacts, un tiers avait été décomposé comme suit : La réaction par l'iodoforme donna des traces d'alcool éthylique. On trouva aussi des traces d'acides volatils gras ; il n'y avait pas d'acétone. L'extraction par l'éther donna de l'*acide paralac-*

tique. Celui-ci fut analysé à l'état de sel de zinc. Voici les chiffres trouvés :

0,1522 grammes de lactate de zinc desséchés jusqu'à poids constant ont perdu 0,0201 grammes d'eau, soit 12, 94 p. 100. Après calcination l'oxyde de zinc restant pesait 0,0438 grammes, soit 26, 69 p. 100 du zinc. Théoriquement le paralactate de zinc exige une perte d'eau de 12, 90 p. 100 et 26, 74 p. 100 de zinc. Les produits de décomposition du sucre de raisin formés par le bacille α sont les mêmes qu'avec le sucre de lait. Voici les chiffres trouvés pour le paralactate de zinc : 0,4056 de sel de zinc perdirent, desséchés jusqu'à poids constant 0,0523 grammes, ce qui équivaut à 12, 89, p. 100. L'oxyde de zinc obtenu après calcination pesait 0,1208 grammes, soit 27,43 p. 100 de zinc.

Action sur le lait. — Si le bacille α jouait un rôle prépondérant dans la maturation du fromage, il devrait, semble-t-il, exercer aussi une action marquée sur la matière albuminoïde du lait. M. le Dr Schaffer, a bien voulu faire l'analyse chimique d'un lait stérilisé et abandonné à l'action du bacille α pendant plusieurs semaines. Voici le résultat de son analyse :

Résidu sec. . . .	12.96 0/0	
Eau	87,04 »	
	100,00	
Matière grasse		3,78 0/0
Acide lactique.		1,28 »
Total des substances azotées . .		3,74 »
Caséine + albumine		2,72 »

La différence que l'on trouve ici entre le total des substances azotées, d'une part, et la caséine et l'albumine, d'autre part (différence indiquant la quantité des produits de décomposition de la matière albuminoïde), soit 0, 02, est plutôt au-dessous de celle qui existe normalement dans le lait. On ne trouve pas, par conséquent, dans le lait soumis à l'action du bacille α de produits de décomposition. Son action est nulle à cet égard et ne permet certainement pas de le considérer comme l'agent unique de la maturation du fromage.

Expériences avec des fromages d'essai. — Pour qu'un microorganisme quelconque puisse être considéré comme l'agent actif d'un processus pathogène ou fermentatif, il faut non seulement qu'on le trouve dans l'organisme malade et dans la matière en état de fermentation, et qu'on arrive à le cultiver à l'état de pureté, mais il faut aussi reproduire par son action la maladie ou la fermentation dont il s'agit. Pour établir le rôle du bacille α comme agent actif de la maturation du fromage ou son inactivité à cet égard, le mieux serait de fabriquer avec un lait absolument pur de microbes et dans lequel on sèmerait le bacille α un fromage et d'observer sa maturation. Il faudrait naturellement que pendant tout le processus de la fabrication aucun microbe étranger ne pût s'établir dans le lait. Or, c'est là une chose difficile à réaliser dans la pratique. Traire 10 litres de lait, c'est la quantité nécessaire pour fabriquer un fromage d'environ 1 kilg., quantité au-dessous de laquelle on ne pourrait guère descendre sous peine d'obtenir des résultats dont on ne pourrait tirer aucune conclusion pour la fabrication du fromage en grand — de façon à éviter toute possibilité de contagion, imposerait un travail énorme à l'expérimentateur qui aurait ensuite à vaincre des difficultés sans nombre pour maintenir son lait à l'abri de toute contamination pendant la fabrication du fromage. La difficulté est cependant susceptible d'être tournée. On peut se borner à donner au microbe que l'on veut étudier une prépondérance marquée sur les organismes que contient d'habitude le lait. En fabricant ainsi 2 fromages à la fois, l'un avec du lait normal, l'autre avec ce même lait additionné d'une forte dose du microbe à étudier, on pourra, en les comparant dans leur évolution, voir si le fromage fait avec le lait inoculé mûrit mieux et plus vite que l'autre. C'est un procédé que j'emploie d'une façon systématique dans ces recherches et qui m'a permis par exemple de prouver expérimentalement, ainsi que je l'exposerai dans un prochain mémoire que la maladie du boursouflement des fromages est due à l'action de microbes spéciaux (1). Enfin on peut aussi

(1) J'ai déjà publié sur ce sujet une notice préliminaire dans le n° 8 de 1890 de la *Milch-Industrie.*

utiliser le fait démontré par le Dr Schaffer que le fromage fabriqué avec du lait cuit ne mûrit pas parce que la cuisson paraît tuer les agents fermentatifs de la maturation, et se servir pour établir l'action d'un microbe donné sur la maturation d'un fromage fabriqué avec du lait cuit comme il a été dit plus haut. Dans ce cas on ajoute les cultures au lait après refroidissement.

Les résultats des expériences que j'ai faites à cet égard semblent prouver qu'à lui seul le bacille est incapable de provoquer la maturation du fromage.

De ces expériences il résulterait que le bacille α, bien que sa présence fréquente et sa multiplication dans le fromage indiquent qu'il n'est pas sans jouer un rôle quelconque, est incapable de produire à lui seul la maturation du fromage. Cependant sa présence semblerait activer ce processus. Peut-être aussi les résultats absolument négatifs obtenus avec le lait ou le fromage cuits à haute température tiennent-ils à ce que son action doit être précédée de celle des microbes que l'on ne trouve qu'au début de la maturation et parmi lesquels se trouvent de nombreuses bactéries liquéfiant la gélatine, susceptibles peut-être de secréter des diastases qui rendraient la caséine plus assimilable dans la suite. Le bacille α et les ferments lactiques analogues dégageant de l'acide carbonique, c'est probablement à eux que serait due la formation des trous du fromage, ce sont-là des questions dont la solution m'occupe actuellement.

Expérience du 25 *novembre* 1889. — On fait deux fromages, l'un de contrôle, l'autre avec un lait additionné de quelques cultures du bacille α. Le 28 décembre la maturation de ce dernier paraît en avance. Le 13 janvier 1890 et le 4 février on ne constate plus aucune différence. Les deux sont bons.

Expérience du 28 *novembre*. — On fait deux fromages comme plus haut. Le 28 décembre le fromage inoculé accuse une maturation un peu plus avancée et un goût de fromage légèrement plus prononcé. Le 1er février 1890 on ne trouve plus de différence.

Le 31 *décembre* 1889 on répète l'expérience. Le lait du second fromage reçoit 200 grammes de culture du bacille α. Le 13 janvier 1890 le second accuse une maturationplus prononcée. Les trous paraissent plus grands et plus nombreux. Le 1er février les deux sont au même point.

Le 14 *décembre* 1889 on fait un fromage avec du lait cuit, infesté après refroidissement avec 400 grammes de culture. Le 13 janvier 1890 il n'y a encore aucune trace de maturation de même que dans le fromage de contrôle fait également avec du lait cuit.

Le 20 *janvier* 1890 on fait un second fromage avec du lait cuit que l'on inocule avec 200 grammes de cultures. Le 26 février pas de maturation.

Le 16 *décembre* 1889 *et le* 22 *janvier* 1890 on fait un fromage dont on porte la cuisson à 100° (dans cette expérience ce n'est donc pas le lait, mais le fromage même qui a été cuit). Au moment de le mettre sous presse, on l'arrose avec des cultures du bacille α. Aucune maturation ; on constate toutefois dans le fromage du 16 décembre la production de quelques trous qui manquent absolument dans le fromage de contrôle.

En résumé on peut conclure de ces recherches :

1° La maturation du fromage est l'œuvre des bactéries, puisque sans bactéries il n'y a point de maturation ;

2° On peut dans la maturation distinguer deux périodes : une première caractérisée par la présence de microorganismes divers dont l'action demande à être étudiée de près, une seconde qui se distingue par la prédominance d'une espèce bactérienne. Dans la plupart des cas étudiés par moi c'est surtout le bacille α que j'ai rencontré à ce moment ; quand il manquait, il était remplacé par des bactéries appartenant également à la classe des ferments lactiques. M. Adametz a aussi trouvé en nombre prépondérant un bacille très semblable au bacille α et qui pourrait être également un ferment lactique. Toutefois, il ne paraît pas probable que ces microorganismes produisent à eux seuls sans la coopération d'autres bactéries toutes les phases de la maturation. Il y aura donc à déterminer plus exactement si leur présence dans le fromage n'est qu'épiphénoménal ou si elle s'accompagne d'un rôle quelconque dans la maturation.

REVUES ET ANALYSES[1]

J. Kunstler et A. de Lustrac. — **Sur la Dumontia libera n. sp.** (*Bulletin scientifique de la France et de la Belgique*, publié par A. Giard, 1889, p. 293 — 297, pl. IX).

L'organisme étudié dans le présent travail vit dans les eaux du bassin d'Arcachon à l'état libre. Il diffère de l'espèce parasite des Ophélies par plusieurs caractères ; l'axe chitineux qui le traverse est fusiforme au lieu d'être renflé à ses deux extrémités ; il est, en outre, complètement entouré par le protoplasma et ses deux pointes n'atteignent pas les parois du corps.

La *Dumontia libera* a été trouvée en trop petit nombre pour être complètement étudiée. Les auteurs y ont seulement constaté la présence d'un corpuscule se colorant plus fortement par les réactifs.

F. D.

J. Kunstler. — **Recherches sur la morphologie des Flagellés** (*Bulletin scientifique de la France et de la Belgique*, publié par A. Giard, 1889, p. 399 — 515, pl. XIV-XXII).

Ce volumineux travail est, ainsi que le dit l'auteur lui-même, une sorte de réédition de son mémoire de 1881, sur les Cryptomonadiens, mémoire qui, l'on s'en souvient, souleva tant de critiques. Nous allons en donner ici une analyse, malheureusement trop abrégée, eu égard à son importance, mais en nous abstenant de toute critique personnelle et en nous bornant à notre simple rôle d'analyste.

Les recherches de M. Kunstler ont porté principalement sur les *Cryptomonas ovata*, *curvata* et *erosa* les *C. Giardi* n. sp. et *polymorpha* et enfin sur une forme voisine des cryptomonadines, mais

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

incolore, le *Chilomonas paramœcium*. La plupart des détails d'organisation décrits par lui, ont été constatés sur des organismes fixés et conservés d'après une technique spéciale qu'il décrit en détail. Elle consiste essentiellement à fixer les organismes frais par l'acide osmique en solution saturée, à couvrir d'une lamelle et à colorer. Le séjour seul de ces formes sur la lame de verre, se prolongeant un peu trop avant la fixation, suffirait à les altérer et à en faire disparaître les détails d'organisation.

Les flagelliums toujours au nombre de deux sont, chez certaines formes du moins, plus épais à leur base qu'à leur extrémité libre ; ils se termineront parfois brusquement et alors l'extrémité atténuée est suivie d'une sorte de prolongement plus fin, plus transparent, parfois renflé à son extrémité libre. Leur structure après fixation varie un peu selon les espèces, mais on y distingue presque toujours une zone axiale entourée d'une couche corticale.

Dans quelques circonstances, le corps de certains flagellés se montre après fixation couvert d'une couche de filaments nombreux et serrés. L'auteur nomme ces filaments *nosopseudopodes*, ils sont, ainsi que le nom l'indique, le résultat d'une altération et ne se trouvent point sur le vivant. Pseudopodes morbides produits aux dépens de la couche périphérique du corps, ils n'apparaissent que sous l'action d'une vive excitation.

Les téguments des Cryptomonadiens sont remarquables par leur complexité et leur régularité ; « les téguments d'un aspect stratifié sont formés de plusieurs couches denses, diversement colorées, séparées par des intervalles en forme de fentes, et en somme leur structure et leur constitution sont fort variées. » On y distingue d'abord une couche externe hyaline, incolore et réfringente portant à sa surface des stries obliques ou des tubercules disposés en séries ; elle correspond à la cuticule des auteurs. En dessous vient la fente sous-cuticulaire qui est limitée intérieurement par la première couche verte ; de la couche verte à la cuticule vont de nombreux trabécules qui divisent la fente sous-cuticulaire en un grand nombre de logettes plus ou moins rectangulaires. Au-dessous de la première couche verte, nouvelle fente analogue à la fente sous-cuticulaire et nouvelle assise de protoplasma d'un vert plus pâle. Enfin relié à la couche tégumentaire par une assise à mailles plus larges, vient l'endoplasma à mailles lâches. C'est dans cette assise intermédiaire de l'ectoplasme et de l'endoplasme, dans cette couche sous-tégumentaire que se forment les grains d'amidon ; c'est là aussi qu'apparaissent des corps sombres de dimensions et de formes assez variables, colorables par le vert de méthyle et sur la nature desquels l'auteur ne se prononce pas d'une façon très nette. Certains de ces corps se trouvent toujours au même point du corps chez une espèce déterminée de Cryptomonade.

L'Endoplasme est toujours constitué par des cavités plus ou

moins grandes, toujours fermées et ne communiquant pas entre elles. Structure vacuolaire.

L'appareil buccal des cryptomonadines est fort compliqué et a été mal compris par Stein et Bütschli. L'auteur y distingue deux parties, la cavité prostomienne située à l'extrémité antérieure du corps et de la bouche. La cavité prostomienne est une véritable invagination de la couche cuticulaire du corps; elle est constituée par une dépression aplatie plus ou moins irrégulière, ouverte en avant. La bouche est une fente plus ou moins courbe qui partant de la cavité prostomienne s'étend plus ou moins sur la face gauche du corps. Dans une fossette de la cavité prostomienne s'insèrent les flagellums.

Faisant suite à la bouche se trouve un organe sacciforme qui fait saillie dans l'intérieur du corps et dont les parois sont nettement différenciées, constituées par des logettes régulières circonscrites, par du protoplasma. Cet organe sacciforme est clos de toutes parts sauf au point où il communique avec la bouche. Enfin reliant le fond de la poche à l'extrémité postérieure du corps, M. Kunstler a vu parfois une traînée claire sur la nature de laquelle il ne se prononce pas.

La vésicule contractile des Cryptomonadines est située dans la région antérieure du corps à la base du rostre et dans le voisinage de la cavité prostomienne. Elle débouche dans celle-ci par un conduit d'habitude fort court, de diamètre assez considérable. Tantôt simple tantôt formé de vésicules secondaires groupées autour d'un conduit commun, elle est formée d'après l'auteur par une invagination de la cuticule qui vient lui constituer une paroi distincte. Il n'y aurait donc pas fusion des vacuoles secondaires en une vacuole principale unique.

L'œil des Cryptomonadiens se compose essentiellement d'un cristallin de forme variable, plongé partiellement dans une assise de granulations pigmentaires, le tout étant plongé dans un corpuscule protoplasmique qui a engendré l'organe.

Chez la plupart des Cryptomonadiens le noyau de forme irrégulière, moulé en quelque sorte sur les organes voisins se compose d'un nucléole entouré d'un reticulum de substance nucléaire. Parfois au lieu d'un nucléole on en trouve deux ou plusieurs, d'autres fois enfin (*C. ovata*) le nucléole unique présente plusieurs lobes et semble alors résulter de la fusion incomplète de plusieurs granulations. Chez certaines formes (*C. ovata curvata*) on trouve en arrière du noyau un corps colorable par les réactifs, analogue à un noyau secondaire et sur la nature duquel on n'est pas bien fixé.

F. D.

Prof. Brandt. — Noté à propos de ses dernières recherches sur les Radiolaires. Separat-Abdruck aus « *Mittheilungen der Vereins Schlesw. — Holstein-Aerzte.* » (12 Heft. Stück 3, 13 Januar 1890).

Cette note porte sur les modifications du noyau de la Thalassicola pendant la formation des embryons. A l'état de vie végétative cet organisme présente tout à fait l'apparence d'une cellule à un seul noyau. C'est dans cet état que le figure Hertwig qui a également constaté la présence d'individus munis de nombreux petits noyaux. (*Anisospores de Brandt*).

L'auteur a constaté deux sortes de sporulation résultant de modifications différentes du noyau. Dans la première (formation des Isospores) celui-ci se fragmente en morceaux de plus en plus petits mais toujours égaux et finit par former une foule de fragments nucléaires qui se réunissent à la périphérie du noyau en en laissant le centre complètement libre de chromatine. Chacun de ces noyaux devient une Isospore. Dans la formation des Anisospores les filaments nucléaires sortent du noyau et viennent former contre la membrane de la capsule centrale une couche radiée de corpuscules chromatiques qui donnent les Macrospores et les Microspores.

F. D.

Schuberg Dr August. — Le genre Conchophtirius. — Die Gattung Conchophtirius. Arbeiten aus dem zoologicsh. — zootomischen institut in Wburg (Bd IX, S. 65-88, Taf. VI.)

Ce travail constitue une bonne monographie d'un petit genre d'Infusoires ciliés parasites, composé de deux espèces connues depuis longtemps, mais imparfaitement étudiées. L'une d'elles, le *Conchophthirius anodontæ*, observé par de nombreux auteurs de 1827 à 1867 vit dans le mucus qui recouvre le corps de l'Anodonte, l'autre découverte par Strenstrup en 1842, vit sur la *Succinea amphibia*. Voici brièvement résumés les détails particuliers à ces deux formes telles que les a vues l'auteur.

Concophthirius anodonte, Ehr. — Corps élastique mais dépourvu de contractilité, aplati latéralement présentant par conséquent une face droite et une face gauche larges et un bord ventral et dorsal aplatis. La face droite est convexe, la face gauche au contraire est plane ou légèrement concave. Vers le milieu du corps, un peu après le tiers antérieur, s'ouvre sur la face ventrale une fosse préorale à laquelle fait suite le pharynx à convexité tournée en haut. L'auteur a particulièrement étudié la ciliation du corps et la direction des lignes d'implantation des cils. La direction générale de ces lignes est longitudinale mais elle éprouve quelques déviations

qui peuvent se résumer ainsi : Toutes les lignes partent d'un point placé près de l'extrémité postérieure du corps, celles du côté gauche se dirigent vers le bord antérieur et s'arrêtent à une zone non ciliée qui longe ce bord ; celles du côté droit contournent la fosse préorale et viennent également aboutir à cette zone. La zone non ciliée ou *crête* part du tiers antérieur du bord dorsal, longe le bord antérieur aboutit à la fosse préorale. La vésicule contractile ne communique pas directement avec l'extérieur par un pore mais s'ouvre dans un petit canal excréteur. Le noyau et le nucléole placés dans le milieu du corps n'offrent rien de particulier.

Conchophthirius Stenstrupii, Stein. — Corps extrêmement élastique mais non contractile, large, ovale, déprimé latéralement comme celui de l'espèce précédente. Face droite convexe, face gauche concave et présentant un peu la forme d'une coquille de bivalve. Fosse préorale très longue et beaucoup plus rapprochée de la partie postérieure du corps que chez le *C. anodontæ*.

Vésicule contractile située à peu près au milieu du corps, se remplissant au moment de la systole par la fusion de vésicules secondaires. La vésicule s'ouvre dans un réservoir analogue à celui des Vorticelles, réservoir qui débouche lui-même dans la fosse préorale. Noyau composé de sept sphères arrondies sans lien apparen entre elles. L'auteur n'a pas observé de nucléole.

Le genre *Conchophthirius* trouve place d'après le Dr Schuberg dans la famille des *Sotrichina* Büts. F. D.

Dr W. Schewiakoff — **Beiträge zur Kenntniss der holotrichen Ciliaten** (Contribution à la connaissance des ciliés holotriches) (*Bibliotheca zoologica Herausgegeben von Leuckart und Chun Cassel*, 1889, Heft 3, 77 pages, in 4°, VII Pl.).

L'auteur publie dans ce travail une monographie de vingt-cinq espèces d'holotriches parmi lesquelles se trouvent trois formes nouvelles. Donner les diagnoses de toutes ces formes serait exposer le lecteur à une répétition fastidieuse, nous nous bornerons donc à les énumérer et à exposer les points nouveaux les plus intéressants de leur organisation.

Urotricha facrta C. et L. U. lagenula K. Holophrya discolor Ehr. présente une couche contractile à Myonème analogue à celle décrite par Bütschli chez le stentor. *Prorodon teres* Ehr. *Didinium Balbianii* Bütsch, la cuticule de cette espèce porte des stries longitudinales qui n'avaient point été signalées, *Dinophrya Lieberkühnii* Büts. *Lionolus faciola* Ehr. *Dileptus Anser* O. F. Müller. L'auteur a fait une étude assez détaillée de la bouche de cette espèce. Selon lui elle est constituée par une sorte de papille homologue de celle des *Holophrya et Prorodon* au centre de laquelle s'ouvre l'ouver-

ture buccale suivie d'un pharynx tubuleux. La papille buccale finement striée est entourée d'un anneau incomplètement fermé se prolongeant le long du col en deux lignes parallèles. Signalons encore la présence de trichocystes très longs, épars sur tout le corps et qui font saillie dans l'endoplasme. *Nassula elegans* Ehr. Un des points les plus intéressants de son histoire est la présence autour d'un corps d'une zone hyaline uniforme, d'épaisseur variable ; cette zone semble cependant n'être pas constante (1). *Nassula aurea* Ehr. *Glaucoma scintillans* Ehr. *G. pyriformis*. *G. macrostoma* nov. sp. se distingue de l'espèce précédente par sa taille plus petite et le développement plus considérable de l'appareil buccal qui se trouve placé plus en avant et tout près de l'extrémité antérieure du corps. *Frontonia leucas* Ehr. Les observations du Dr Schewiakoff sur cette intéressante forme de cilié ont été probablement faites avant la publication des travaux de Balbiani Bütschli et Fabre D. Il n'eut point alors manqué de constater en les recherchant les remarquables anastomoses des vaisseaux contractiles constatées presque simultanément par ces trois auteurs. *Colpidum colpoda* Ehr. *Uronema marina* Dus. Dans la synonymie de cette espèce figure le *Philaster digitiformis* F. D. ; l'auteur admet comme l'a également fait Bütschli dans ses Protozoa que les deux espèces sont identiques. Nous saisissons ici l'occasion de protester contre cette affirmation. Comme taille et comme faciès le *Philaster* se distingue nettement de l'*Uronema*. Les cils de cette dernière forme sont beaucoup plus longs et plus rigides, de plus elle ne possède point le sillon préoral et la courbure caractéristiques du *Philaster*. Ajoutons que l'espèce trouvée par nous sur une Astérie mutilée se rencontre presque toujours dans les mêmes conditions et que de plus nous n'avons jamais fait un élevage d'œufs d'Astérie ou d'Oursin sans voir apparaître l'Infusoire dès que survenait la moindre trace de putréfaction. *Urozona Bütschlii* nov. sp. Petite forme voisine de l'Urocentrum mais, qui en diffère néanmoins par les contours du corps et la présence d'une seule ceinture ciliaire. *Cinethochilom margaritaceum* Ehr. *Urocentrum Turbo* F. P. Müller dont l'auteur donne une étude très complète et très détaillée. *Lembadion bullinum* O. F. Müller, *Pleuronema chrysalis* Ehr., *Cyclidium glaucoma* O. F. Müller, *C. glaucomau. var. Clongatum nov.* se distingue de l'espèce type par une forme plus allongée. *C. citrullus C. et L. Balantiophorus minutus* nov. g. et nov. sp. Espèce voisine du *Cyclidium*

(1) Nous avons observé la même particularité chez la *Nassula ornata* en épidémie de conjugaison ; les individus en voie d'accouplement en étaient seuls pourvus et c'est cette couche hyaline plus ou moins développée selon les espèces qui donne aux individus la propriété temporaire d'adhérer entre eux par n'importe quel point de leur corps.

caractérisée par un corps allongé, pyriforme portant vers son extrémité antérieure un sillon muni d'une nasse membraneuse.

F. D.

A. Issel. — **Radiolaires fossiles contenus dans les cristaux d'Albite** (*Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, t. CX, N° 8, 24 Février 1890, p. 420).

Dans des coupes minces examinées au microscope d'un calcaire porphyrique des environs de Rovegno (province de Pavie), l'auteur a pu observer une dizaine d'espèces de Radiolaires appartenant aux genres *Thecosphœra*, *Heliosphœra*, *Caryosphœra*, *Dictyomitra*, *Polystichia*, *Stichocapsa*, *Euchitonia*, etc. Un grand nombre de ces formes se trouvent enchâssées dans l'intérieur même des cristaux d'albite contenus dans la roche. Ces espèces se rapprochent de certaines formes décrites par M. Pantanelli et par M. Rüst mais elles sont presque toutes nouvelles. Quatre figures sur bois accompagnent cette note et montrent les rapports des échantillons avec les cristaux d'albite qui les contiennent. F. D.

Erratum. — Dans l'analyse du travail de M. Certes sur le *Spirobacillus gigas* nous avons donné à cet organisme une longueur de 35 à 45 μ. M. Certes a l'obligeance de nous informer que par suite d'une erreur typographique qui s'est glissée dans son travail, ce chiffre est faux et doit être ainsi rectifié 35 à 145 μ. F. D.

Dr Pietro Canalis. — **Sur la désinfection des wagons ayant servi au transport des bestiaux sur les voies ferrées** (*Giornal della R. Società Italiana d'Igiene*, 1889, p. 5).

La question de la désinfection des wagons servant au transport des bestiaux a, depuis longtemps déjà, attiré l'attention des hygiénistes et, dans plusieurs pays, des règlements ont été édictés sur cette matière. En Italie, la désinfection n'est pas encore prévue par la loi. Cette lacune a engagé l'auteur à reprendre l'étude de cette question en lui donnant une base expérimentale. Comme il s'agissait de trouver un moyen de désinfection pratique et d'une application facile, M. Canalis a exclu de ses recherches la désinfection par la vapeur d'eau, ou d'autres moyens compliqués, et s'est borné à étudier l'effet des lavages avec des solutions d'acide phénique (5 %) et de sublimé (1, 1,5 et 2 %o). L'adjonction d'un acide augmentant, ainsi qu'il résulte des expériences de Laplace, le

pouvoir désinfectant, M. Canalis ajoutait aux solutions 5 °/₀₀ d'acide chlorhydrique pur. Avant la désinfection, on comptait le nombre des germes qui se trouvaient sur les parois, d'après le procédé indiqué par M. Esmarch (essuyage de quelques centimètres carrés à l'aide d'une petite éponge stérilisée, que l'on plonge ensuite dans de la gélatine dont on fait des cultures sur plaques); 24 heures après la désinfection, l'opération était répétée à des endroits qu'on avait eu la précaution de recouvrir, pour empêcher une contamination par les germes de l'air, et la comparaison des chiffres obtenus permettait de conclure au plus ou moins de réussite de la désinfection. Il résulte des expériences de l'auteur, que le sublimé à 1,5 °/₀₀ est aussi efficace que la solution à 2 °/₀₀, et produit une désinfection complète dans la plupart des cas, quand la désinfection a été précédée d'un nettoyage à l'eau chaude. Quand la désinfection n'est pas absolue, le nombre des germes restant est du moins réduit à un chiffre minime. Les résultats sont moins satisfaisants sans nettoyage préalable, ou quand on emploie le sublimé à 1 °/₀₀ seulement ou l'acide phénique. Il serait trop long d'énumérer ici les chiffres obtenus par l'auteur dans ses expériences ; le lecteur les trouvera dans le tableau que contient le Mémoire. Dans les cas de maladie confirmée, l'auteur propose, en conséquence, d'employer pour le premier nettoyage la solution de sublimé, pour éviter l'infection des ouvriers. Ce nettoyage sera suivi d'un lavage soigneux avec la solution à 1,5 °/₀₀. Le nettoyage à l'eau chaude, suivi de désinfection au sublimé, sera employé dans les cas où la désinfection n'est ordonnée que par mesure de prudence, sans qu'aucune maladie ait été constatée.

E. F.

R. Emmerich et Eug. di Mattei. — Recherches sur les causes de l'immunité acquise (*Fortschritte der Medicin*, n° 10, p. 730).

Le problème de l'immunité attire de plus en plus les expérimentateurs. A peine avons-nous terminé l'analyse des travaux des élèves du professeur Flügge, tous consacrés à cette importante question, que nous avons à rendre compte d'un nouveau et très intéressant travail de MM. Emmerich et di Mattei sur cette matière. Pensant avec raison, comme M. Flügge, que ce n'est que par une suite de recherches continues s'attaquant à chaque point de détail de la question que l'on arrivera à l'élucider, les auteurs ont limité leur travail à un point spécial, l'étude de l'immunité chez le lapin vacciné contre le rouget du porc. Ils se sont, en particulier, posé les deux questions suivantes :

1° Combien de temps faut-il à l'organisme vacciné pour dé-

truire les bacilles du rouget qu'on lui inocule après qu'il a acquis l'immunité ?

2° Les phagocytes de Metschnikoff prennent-ils part à la lutte entreprise par l'organisme contre les bacilles du rouget ?

Pour produire chez le lapin une immunité complète à l'égard de cette maladie, MM. Emmerich et di Mattei se servent de l'injection intraveineuse d'une culture de bouillon (1 cmc. dans la veine de l'oreille). Les lapins si sensibles à l'injection sous-cutanée du virus, acquièrent, par ce moyen — ils sont seulement un peu malades pendant quelques jours — une immunité parfaite et résistent dorénavant à l'inoculation, par la voie sous-cutanée, de masses énormes de bacilles (20-30 cmc.). Après avoir ainsi immunisé un certain nombre de lapins, ils leur injectaient, soit sous la peau, soit directement dans les veines, quelques centimètres cubes d'une culture virulente. Les animaux étaient sacrifiés au bout de temps variables, et leurs organes (portions du tissu dans lequel l'injection avait été faite et d'organes internes) étaient examinés microscopiquement et employés à faire des cultures sur plaques et dans du bouillon. Le résultat imprévu de leurs nombreuses expériences fut qu'au bout de 25 minutes déjà tous les bacilles introduits dans l'économie sont morts. Au bout de dix minutes, les bacilles sont encore vivants, mais ils paraissent déjà affaiblis, car les morceaux de tissus excisés et ensemencés donnent bien des cultures du rouget, mais avec des retards plus ou moins considérables. Dans les expériences de contrôle, au contraire, faites de la même manière sur des lapins non vaccinés, les bacilles se retrouvaient vivants 2, 4, 6 et 8 heures après l'injection, tant au point d'inoculation que dans le sang. Dans les préparations, les phagocytes étaient peu nombreux, et les auteurs n'ont pas réussi, dans un seul cas, à constater l'englobement des bacilles. Ils en concluent que les phagocytes ne jouent aucun rôle dans la lutte de l'organisme vacciné contre les bacilles du rouget. Ils font, du reste, valoir à l'appui de leur conclusion que le temps si court pendant lequel s'opère la destruction des milliards de bacilles injectés ne permet guère d'attribuer aux phagocytes l'honneur de la victoire dans cette lutte, puisqu'il faut environ 15 minutes à un phagocyte pour dévorer un seul bacille.

Arrivés à ces conclusions, les auteurs ont cherché l'explication de ces phénomènes destructifs. La réponse la plus plausible leur semble être que l'immunité consiste dans une réaction provoquée dans les cellules immunisées par les produits vénéneux que secrètent les bactéries, et qui aurait pour conséquence la formation d'un poison bactérien violent, quoique inoffensif pour les cellules animales elles-mêmes. Ce qui leur paraîtrait rendre cette hypothèse vraisemblable est la rapidité de la destruction des bactéries dans l'organisme, 15 à 20 minutes seulement. On dirait l'action d'une

solution de sublimé ou d'un autre antiseptique énergique. Resterait la question de savoir si ce poison bactérien existe dans le corps vacciné déjà avant l'invasion des bacilles ou bien s'il se produit seulement à la suite de l'irritation des cellules provoquées par les bactéries. Pour résoudre cette question, MM. Emmerich et di Mattei répétèrent les précédentes expériences sur des lapins vaccinés, mais en pratiquant la ligature des vaisseaux de la cuisse et en opérant, au moyen de bandes de caoutchouc, une forte compression sur la partie supérieure de ce membre, avant d'injecter les bacilles virulents au-dessous de la ligature. Si le poison bactérien était répandu dans tout l'organisme, les bacilles auraient dû périr également dans la partie séparée par les ligatures. Au lieu de cela, ils les retrouvèrent vivants en ensemençant des parcelles du tissu dans lequel avait été pratiquée l'injection. Ils cherchèrent encore à corroborer ce résultat en choisissant, pour faire les injections, la chambre antérieure de l'œil. En effet, les bacilles doivent y périr si le poison bactérien est formé d'avance dans l'organisme qui possède l'immunité, tandis que si ce dernier ne se produit qu'au moment de l'invasion, à la suite de l'irritation provoquée par les sécrétions des bacilles, ceux-ci pourront vivre longtemps dans la chambre antérieure, parce que, ainsi que cela a été démontré expérimentalement, les cellules qui tapissent la chambre antérieure ne se laissent pas pénétrer, par exemple, par l'humeur aqueuse de l'œil, et, par conséquent, les substances sécrétées par les bactéries les irriteront moins et ne provoqueront pas de réaction de leur part, c'est-à-dire de production du poison bactérien. Or, l'expérience confirme cette hypothèse, car, retirés après un séjour même de 36 heures dans la chambre antérieure de l'œil les bacilles donnèrent de belles cultures. MM. Emmerich et di Mattei en concluent que le poison bactérien qui, dans leur hypothèse, serait produit par les cellules de l'organisme immunisé, ne se forme qu'à la suite de l'irritation spécifique exercée sur les cellules par la nouvelle invasion de ces bactéries.

E. F.

Dr Claudio Fermi. — **Les ferments dissolvants la gélatine et la fibrine et les diastases produits par les microorganismes** (*Archiv. für Hygiene*, X, p. 1).

On sait qu'un grand nombre de bactéries liquéfient la gélatine. Dans son travail M. Fermi montre que cette action est due non pas aux microorganismes eux-mêmes mais à un ferment qu'ils produisent dans leurs cultures. En effet lorsqu'on ajoute à de la gélatine rendue antiseptique et dans laquelle la vie des bactéries n'est

pas possible, quelque gouttes d'une culture de microbes doués du pouvoir liquéfiant, on voit la gélatine se fluidifier peu à peu. Il en est de même quand on ajoute à la gélatine quelques gouttes d'une culture dans laquelle les bactéries ont été tuées par une stérilisation fractionnée. Mais l'auteur a fait mieux encore ; il a isolé ces ferments et constaté alors leur pouvoir dissolvant. Le procédé qu'il a employé est le suivant : à 200 centimètres cubes d'une culture dans la gélatine on ajoute 200 centimètres cubes d'alcool dilué de façon à précipiter la gélatine sans précipiter les ferments. En employant de l'alcool absolu on précipiterait les deux ensemble, avec l'alcool dilué on évite cet inconvénient. Le degré de dilution suffisant pour précipiter la gélatine seule varie toutefois selon les cultures, ainsi pour les bacilles du choléra il faut 35 p. 100 H^2O + 65 p. 100 d'alcool, pour le bacille de Finkler-Prior 30 p. 100 H^2O + 70 p. 100 d'alcool, pour le *Bac. pyocyaneus* 35 p. 100 H^2O + 65 p. 100 d'alcool, pour le *M. prodig.* 25 p. 100 H^2O + 75 d'alcool, etc. Au bout de 24 heures la gélatine est précipitée. Après filtration on précipite les ferments par l'alcool absolu on les fait sécher sur le filtre et on les reprend par de l'eau de thymol (100 centimètres cubes). Ces ferments sont solubles dans l'eau et dans la glycérine, et sont précipités par l'alcool et les sels métalliques. La cuisson les détruit. A l'état sec, ils forment une poudre amorphe jaunâtre, analogue à la trypsine et la pepsine. Plusieurs de ces ferments dissolvent également la fibrine. M. Fermi range parmi les bactéries qui produisent un ferment attaquant la gélatine et la fibrine : le Bac. du charbon, le Vibrion de Koch, le Bac. de Finkler-Prior, le *M. prodig.*, le *M. ascorformis*, le *Bac. ramosus*, le *Bac. pyocyaneus*, les Spirilles du fromage, le Vibrion de Miller, le bac. du foin, le *Bac. megaterium*, le *Trichophyton tonsurans*.

L'auteur a de même démontré l'existence d'une diastase dans les cultures suivantes : charbon, choléra, Bac. de Finkler, spirille du fromage, *Bac. ramosui*, bac. Fitz, bac. du foin, *Bac. megaterium*, *Bac. tetragenus*, bac. de Miller. Ces bactéries ont une action énergique. Plus faible est la diastase des suivantes : bac. des fèces, *Bac. pyog. fet.*, *Bac. aceticus*, vibrion du foin, *Staph., cereus et flavus*, *Bac. pneumo.*, *Bac. violaceus*, Bac. de la morve, *Trichophyton tonsurans*. Les diastases de plusieurs de ces microorganismes furent aussi isolées au moyen du procédé indiqué plus haut.

Un grand nombre d'expériences ont encore été consacrées à déterminer l'action de la chaleur et de quelques agents chimiques sur ces ferments. Cela nous mènerait toutefois trop loin d'en résumer les résultats ici, même brièvement et nous devons pour cela renvoyer le lecteur à l'étude du mémoire de M. Fermi.

E. F.

Dr Ph. da Camara Mello Cabral et Aug. Ant. da Rocha. — **Recherches du bacille Typhique dans les eaux potables de Coimbra** *(I. Trabalhos do Cabinette de Microbiologia).*

La première partie de ce travail, présenté sous forme de rapport officiel à M. le gouverneur civil du district de Coïmbra, a trait à la découverte du bacille d'Eberth dans une des eaux potables de la ville de Coïmbra ; cette eau soustraite à la consommation des habitants a amené la fin de l'épidémie.

La seconde partie de ce mémoire brièvement exposée dans un appendice nous paraît beaucoup plus intéressante, elle traite de la morphologie du bacille typhique et mériterait les honneurs d'une traduction intégrale ; nous allons nous efforcer d'en résumer le texte déjà trop succinct.

Le *Bacillus typhicus* présente des phases de développement faciles à observer entre 17 et 18 degrés : il parcourt son cycle évolutif dans l'espace de 9 à 12 jours. D'abord il se présente sous la forme de corps sphériques mobiles de 1 μ à 1,5 μ de diamètre colorables par la fuchsine phéniquée ; ces globules passent à l'état de corps sphéroïdaux, puis à l'état de bacilles complets au bout de 4 à 6 jours. Ces bacilles donnent des spores et pendant cette période de sporulation, ils affectent des formes bizarres (en battant de cloche, pistolet, etc.) ; plus tard enfin les cultures ne montrent plus que des granulations, corps sphéroïdaux primitifs.

La description du cycle évolutif biologique du *Bacillus typhicus* donnée par le Dr Aut. da Rocha nous paraît très exacte et très précise, mais commune à une quantité innombrable de bacilles vulgaires ; aux *Bacillus subtilis*, *amylobacter*, etc. Cependant il restait nous croyons à suivre ces diverses phases de végétation sur le bacille de la fièvre typhoïde, et c'est peut-être là un des mérites du Dr da Rocha d'y être parvenu.

Dr M.

Dr E. Roux. — **Bactéridie charbonneuse asporogène** (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 25).

On connaît depuis longtemps la propriété que peut montrer la bactéridie charbonneuse de végéter dans les milieux de culture les plus divers sans donner des spores. MM. Roux et Chamberland ont établi que dans du bouillon additionné de 0 gr. 5 de bichromate de potasse le *Bacillus anthracis* devient asporogène et conserve ensuite cette faculté négative quand on le transporte non seulement au sein des milieux les plus propices à sa culture, mais encore dans l'organisme vivant. Il est vrai que 6 à 7 ans plus tard

MM. Lehman et Behring ont découvert le même fait. M. E. Roux s'étonne que ses travaux et ceux de son collègue M. Chamberland aient pu rester ignorés de MM. Lehman et Behring. Cette surprise ne saurait être justifiée par la lecture de la plupart des travaux publiés en Allemagne. En effet, tous les jours et sur toutes les questions, il se publie outre Rhin des mémoires dont les auteurs ont pour habitude de faire *table rase* des travaux publiés à l'étranger. Est-il surprenant dans ces conditions que les bactéridies asporogènes, connues ici depuis 6 ans, aient éclos tout récemment entre les mains habiles des savants allemands ?

Pour préparer la bactéridie charbonneuse asporogène, M. Roux indique le procédé suivant : dans une série de 10 tubes contenant du bouillon on ajoute des quantités d'acide phénique croissantes par 1/5.000 allant de 1,5.000 à 10,5.000 ; les vases stérilisés sont ensemencés avec une goutte de sang charbonneux. Après 8 à 10 jours, on prélève quelques gouttes de la culture dans chacun des tubes, on les soumet un quart d'heure à 65° et on les sème dans du bouillon de veau ordinaire. Les cultures de bouillon phéniqué qui se montrent fertiles après ce traitement, ne contiennent pas de bactéridies exemptes de germes, car les spores du *Bacillus anthracis* résistent seules dans de semblables conditions. Les cultures non fertiles sont constituées par des bactéridies asporogènes qui mourront sans laisser de graines ; cependant elles n'ont pas perdu leur virulence, elles tuent sûrement les cobayes et les lapins dans les limites de temps habituelles, subissent les passages successifs d'animal à animal sans récupérer la faculté de donner des semences.

M. Roux établit ensuite les différences macroscopiques qui caractérisent les cultures des bactéridies asporogènes ; il indique leur résistance à la vieillesse, la manière dont on peut atténuer leur virulence en prolongeant sur elles l'action de l'antiseptique, et termine son travail intéressant par des considérations générales très vraies sur l'instabilité des espèces microscopiques et sur la fugacité des caractères que présentent leurs cultures sur les *substrata* solides. En somme le savant collaborateur de M. Pasteur nous montre par l'exposition de ses idées larges en cette science si difficile de la bactériologie, qu'il est à la fois un observateur habile et consciencieux. A considérer la facilité avec laquelle les espèces microscopiques abdiquent leurs caractères morphologiques, physiologiques ou pathologiques, il semble que la microbiologie tout entière va errer sans boussole ou sans gouvernail solide capable de la diriger dans la voie du progrès. Cela ne nous paraît pas cependant démontré ; qu'il nous en coûte d'abandonner nos idées erronées sur la spécificité d'action ou de forme des microbes, que cette constatation soit décevante, que nos recherches sur les infiniment petits en deviennent plus difficiles, nous ne pouvons le nier, mais nous devons n'accuser

que nous-mêmes de ces déceptions; la nature a certainement agi en tout ceci avec une extrême simplicité, et nous avons été peut-être présomptueux quand nous avons abordé l'étude des infiniment petits avec des idées déjà arrêtées, sur leur invariabilité, et avec l'espoir de les classer en groupes, en tribus distinctes faciles à différencier; cette conception prématurée n'est plus en accord avec les faits; il faut donc sans découragement en chercher une nouvelle qui puisse supporter sans crouler le contrôle sévère de l'expérience.

Dr M.

Dr R. Neuhauss. — **Sur les flagella des bacilles du choléra asiatique** (*Centralblatt für Bakteriol. u. Parasitenkunde*, V, 3, p. 81).

Aucun des nombreux expérimentateurs qui se sont occupés des bacilles du choléra asiatique n'avait réussi, jusqu'ici, à déceler chez ce microorganisme la présence d'un flagellum, et cependant la rapidité de ses mouvements impose l'idée qu'il doit être muni, comme d'autres microbes mobiles, d'un organe de locomotion. M. Neuhauss s'est, à son tour, occupé de cette question. Toutefois, ses premières recherches, bien que faites à l'aide des meilleurs objectifs connus, les lentilles apochromatiques de Zeiss, ne lui donnèrent aucun résultat positif ni dans l'observation directe, ni en employant les procédés microphotographiques. M. Neuhauss s'était jusqu'alors servi de cultures récentes, vieilles de quelques jours seulement et contenant des bacilles très mobiles. Il eut alors l'idée d'examiner des cultures de bouillon de 4 semaines, dans lesquelles on voit de longs spirilles et dans lesquelles les bacilles ont acquis en général des dimensions moins exiguës; la plupart ont perdu, il est vrai, toute motilité, cependant on y rencontre encore un certain nombre d'individus mobiles. Là aussi l'observation directe ne permit pas d'apercevoir le moindre appendice; par contre, les clichés photographiques donnèrent de meilleurs résultats, car dans un de ceux-ci on put nettement distinguer quelques flagella, et cependant en observant dans la préparation microscopique qui avait servi à faire le cliché les bacilles qui, sur ce dernier, sont munis d'un flagellum, il est impossible de rien voir.

Rien ne saurait mieux démontrer l'utilité des procédés microphotographiques qui, grâce à leur sensibilité plus grande, parviennent à mettre en lumière des détails échappant à l'œil le mieux armé.

E. F.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel-de-Ville) *Janvier* 1890

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
			TEMPÉRAT.	PLUIE —	VENT			
	BACTÉRIES	MOISISSURES	moyenne	Hauteur en millimèt	Direction moyenne	Force moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 1, du 29 décemb. 1889 au 4 janvier 1890	7.400	2.400	0° 2	0mm,8	NE	10km	169	977
N° 2, du 5 janvier 1890 au 11 » »	5.500	3.300	7 ,0	7 ,0	SW	15	121	756
N° 3, du 12 » » au 18 » »	6.400	3.200	6 ,3	1 ,0	SW	14	102	427
N° 4, du 19 » » au 25 » »	6.330	2.160	2 ,1	30 ,6	SW	28	134	242
N° 5, du 26 » » au 1er février »	10.800	600	6 ,4	12 ,8	Var.	20	127	163
MOYENNES ET TOTAUX	7.285	2.340	4°,2	52mm,1	»	17,4	653	2565
ANNÉE MOYENNE	4.520	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques*, sont comprises: les fièvres éruptives, la fièvres typhoïde et l'atrepsie (choléra enfantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aigues des poumons (Bronchite aigue, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts

Janvier 1890. Bactéries = » Moisissures = » Température = »

Analyses diverses (. . . . .)

Janvier 1890. Bactéries = » Moisissures = » Température = »

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Janvier* 1890

DESIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Janvier 1890	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	950	705	»	Canalis. = 2.050 bactéries
» de la Dhuis à Ménilmontant.	2.675	1.890	»	Canalis = 2.600 »
» d'autres provenances	»	»	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint Maur.	78.000	28.650	5°,0	»
» de la Seine à Ivry	69 259	27.340	5°,3	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz . . .	69.000	31.060	»	Haut. de la Seine 1m,37
» de la Seine au pont de l'Alma	95.000	77.525	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	59.500	36.190	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Eau du puits de l'Eglise à Bezons.	2.200	»	»	»
» du puits Gaidelin à Créteil.	1.700	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Eau du drain de Saint-Maur	»	2.110	»	»
» du drain d'Asnières	.50	»	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	»	13.315.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est	54.000.000	19.440.000	»	»
» » traitée à Bondy.	»	74.250	»	»

BIBLIOGRAPHIE

Dr C. J. Salomonsen. — **Bactériological technology for physicians**, avec 72 fig. dans le texte (Traduction anglaise de la seconde édition danoise, insérée dans le vol. IV, fascicule N° 2 des *Wood's Médical and Surgical*, Nov. 1889, New-York).

Ce traité complet de technique publié par un de nos savants les plus compétents sur la matière, en vue de rendre service aux médecins est divisé en treize chapitres, se succédant dans un ordre naturel que l'auteur a écrit avec une simplicité et un esprit de méthode dignes d'être signalés.

Le premier chapitre traite d'abord de la stérilisation des milieux de cultures par la chaleur, et par la filtration à la température ordinaire au moyen des bougies de porcelaine. Les appareils usités pour la culture des bactéries font l'objet du second chapitre où se trouvent décrits et représentés les tubes et flacons divers fermés à la ouate ou à capuchon rodé suivant les modèles de M. Pasteur et dont on voit l'usage se généraliser dans les laboratoires. Les pages suivantes sont consacrées à la préparation des milieux nutritifs liquides et solides, à la clarification des gelées, à leur filtration à chaud, à la coagulatioa du sérum de sang, etc., suivant des recettes spéciales ou des tours de main enseignés avec les détails nécessaires à une bonne réussite.

Les cultures des bactéries à l'état de pureté, la séparation des espèces, leur inoculation en stries ou par piqûres, font l'objet de quelques paragraphes courts ou substantiels. Il aurait manqué à ces indications précieuses un article important, si M. Salomonsen se fût tu sur les étuves à incubation, sur les moyens d'en rendre la température invariable ; le chapitre VI de son manuel est spécialement consacré aux thermo-régulateurs et aux étuves si utiles aux bactériologistes.

Le chapitre VII résume très exactement les méthodes employées actuellement pour le dosage des organismes de l'air, du sol et des eaux. Naturellement, il y est question des trompes d'aspiration, des aéroscopes et des procédés qui paraissent susceptibles de fournir

les résultats les plus précis. Les chapitres VIII et suivants traitent de la culture des organismes anaérobies en tubes scellés vidés d'air ou dans différents gaz, et sur le porte-objet même du microscope. Toutes ces descriptions sont accompagnées de nombreuses figures intercalées dans le texte qui guident sûrement l'élève dans ces lectures fructueuses. Enfin les derniers chapitres du livre du Dr Salomonsen sont consacrés plus spécialement aux questions de la technique générale microbiologique, aux inoculations pratiquées sur les animaux vivants, à la confection et à la coloration des préparations microscopiques.

Le style serré et concis avec lequel est écrit le traité que nous analysons a permis à son auteur d'aborder toutes les questions dont la connaissance est essentielle aux bactériologistes. Le talent d'exposition dont M. le Dr Salomonsen possède le secret lui a permis en outre de les rendre compréhensibles aux élèves et aux médecins presque novices dans ce genre d'études. A notre avis il est regrettable que cet ouvrage n'ait pas encore été traduit en français, il jouirait certainement dans notre pays du succès mérité qu'il a rencontré en Danemarck et aux États-Unis. Nous faisons des vœux pour qu'un éditeur intelligent se charge de publier cette traduction qui serait pour tous une source de profits. Dr M.

PUBLICATIONS RÉCENTES

BACTÉRIOLOGIE

J. Héricourt et Ch. Richet. — Étude physiologique, sur un microbe pyogène et septique (*Arch. de méd. exp. et d'anat. path.*, t. I, n° 5).

A. Laveran. — Des hématozoaires du paludisme (*Arch. de méd. exp. et d'anat. path.*, t. I, n° 6).

G. Bonisson. — Note sur un cas de charbon intestinal, chez l'homme (*Arch. de méd. exp. et d'anath. path.*, t. I, n° 6).

Dr A.-P. Pawlowsky. — Sur les formes mixtes de la tuberculose des articulations (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 526).

N. Gamaléia. — *Vibrio Metschnikovi*, Vaccination chimique (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 542).

J. Bardach. — Recherches sur le rôle de la rate, dans les maladies infectieuses (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 577).

Dr G. Ferré. — Contribution à l'étude séméiologique et pathogénique de la rage (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 604).

N. Gamaléia. — *Vibrio Metschnikovi ;* exaltation de la virulence, localisation intestinale (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 609 et 625).

Dr Ch. Schaffer. — Nouvelle contribution à la pathologie et à l'histo-pathologie de la rage humaine (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 644).

Adami. — Une épidémie de rage, sur un troupeau de Daims (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 658).

N. Batschinski.— Les microorganismes du canal digestif. (Broch. in-8, 50 p., avec planches, Saint-Pétersbourg).

Michel. — Propagation de la fièvre typhoïde par l'eau servant à l'alimentation (*Annales d'hygiène publique*, décembre 1889).

L. de Blasi et G. Russo Travali. — Ricerche sulla rabbia. Recherche sur la rage (*Boll. della Soc. d'Igiene di Palermo*, nos 11 et 12, 1889).

A. Stub. — Bacteriological investigations of a case of Yellow fever. Investigations bactériologiques d'un cas de fièvre jaune (New-York, *Medical journal*, 28 déc. 1889).

Prof. E. Klebs. — Ein Blutbefund bei Influenza. Résultats de l'examen du sang dans l'influenza (*Centrabl. für Bakteriol. u. Parasitenk.*, VII, p. 145).

L. v. Besser. — Ueber die Bakterien der normalen Luftrwege. Sur les bactéries des voies respiratoires normales (*Zieglers Beiträge zur pathol. Anatomie u. zur allgem. Pathologie*, VI, 4).

Ernst Harold C. — Howo far maq a eow be tuberculons before her milk burmès dangerous as an article of food. Jusqu'à quel degré la vache peut-elle être tuberculeuse avant que son lait constitue un danger dans l'alimentation (*American Journal of med. sciences*, 1889, novembre).

Martinotti e Barbacci. — Presenza di bacilli del tifo nell acqua potabile. Présence du bacille typhique dans l'eau potable (*Estr. dal Giornale della Reale Accademia di medicina di Torino*, 1889, 8).

C. Lueurs. — Beiträge zur Kenntniss der Aktinomykose des Menschen. Contributions à la connaissance de l'actinomycose de l'homme (*Thèse. Gœttingue* chez Kästner, 1889).

H. Scholl. — Beiträge zur Kenntniss der Milchzersetzungen durch Microorganismen. Contributions à la connaissance des décompositions du lait par des microorganismes (*Fortschritte der Medicin*, VIII, p. 41).

A. Celli e E. Marchiafava. — Sulle febri malariche predominante nell estate e nell autunno in Roma. Sur les fièvres paludéennes régnant à Rome en été et en automne (*Estratto dagli atti della R. Accademia medica di Roma*, anno XVI, vol. V, série II).

E. Finger. — Zur Frage der Immunität u. Phagocytose beim Rotz. De l'immunité et de la phagocytose dans la morve (*Zieglers Beiträge zur pathologischen Anatomie u. zur allgem. Pathologie*, VI, 4).

Czaplewski E. — Untersuchungen über die Immunität der Tauben gegen Milzbrand. Recherches sur l'immunité des pigeons à l'égard du charbon (*Beiträge zur pathol. Anatomie u. zur allgem. Pathologie*, VII, p. 49).

Fahrenholtz G. — Beiträge zur Kritik der Metschnikoff'schen Phagocytenlehre auf Grund eigener Infectionsexperimente mit Milzbrandsporen am Frosche. Contributions à la critique de la théorie phagocytaire de Metschnikoff basées sur des expériences d'infection de la grenouille au moyen de spores charbonneuses (*Thèse. Königsberg*, 1889).

P. Baumgarten. — Ueber das « experimentum crucis » der Phagocytenlehre. Sur « l'experimentum crucis » de la théorie phagocytaire (*Zieglers Beiträge zur pathol. Anatomie u. allgem. Pathol.*, VII, p. 1).

Dr L. Adametz. — Die Bacterien normaler u. abnormaler Milch. Les bactéries du lait normal et du lait anormal (Conférence faite à la Société des agriculteurs et forestiers de Vienne, 12 avril 1889).

V. Babès. — Vorläufige Mittheilungen über einige bei Influenza gefundene Bakterien. Communications préliminaires sur quelques bactéries trouvées dans l'influenza (*Centralbl. für Bakteriol. u. Parasitenkunde*, VII, p. 233).

Berckholtz. — Untersuchungen über den Einfluss des Eintrocknens auf die Lebensfähigkeit der cholerabacillen. Recherches sur l'action de la dessication sur la vitalité des bacilles du choléra (*Arbeiten ans dem K. Gesundheitsamte*, V, p. 1).

H. Neumann. — Bakteriologischer Beitrag zur Aetiologie der Pneumonien im Kindesalter. Contribution bactériologique à l'étio-

logie des pneumonies chez l'enfant (*Iahrbuch für Kinderheilkunde, neue Folge*, XXX, 3).

Bumm. — Ueber die Einnrrkung pyogener Mikroorganismen auf das Bindegewebe nebst Bemerkungen ueber die Bedeutung derselben Mikroben für die progressive Eiterung. De l'action des microorganismes pyogènes sur le tissu conjonctif et observations sur le rôle de ces microbes dans la suppuration progressive (*Sitzungsberichte der physikalisch-medicin. Geselischaft zu Würzburg*, 1888, p. 95).

Schiller. — Beitrag zum Wachsthum der Typhusbacillen auf Kartoffeln. De la croissance des bacilles typhiques sur la pomme de terre (*Arbeiten ans dem kaiserl. Gemndheitsanste*, V, p. 312)

Ribbert. — Anatomische und bakteriol. Beobachtungen über Influenza. Observations anatomiques et bactériol. sur l'influenza (*Deutsche med. Wochenschrift*, 1890, 4).

R. v. Jaksch. Ueber Malariaplasmodien. Sur les plasmodies de la malaria (*Prager med. Wochenschrift*, 1890, 4).

PROTOPHYTES ET PROTOZOAIRES

E. Duclaux. — Note sur la formation des spores dans la levure (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 556).

Barker Smith. — A contribution to the morphologyof the saccharomycete of diabetic urine. Une contribution à la morphologie du saccharomycète de l'urine des diabétiques (*The Lancet*, 22 septembre 1889).

N. G. Massjutin. — Les amibes comme parasites de l'intestin (en Russe) (*Wratsch*, 25).

L'Éditeur-Gérant,
Georges CARRÉ.

Tours. — Imprimerie DESLIS FRÈRES

ANNALES

DE MICROGRAPHIE

SUR L'ACTION DÉSINFECTANTE DU BLANCHIMENT DES MURS AU LAIT DE CHAUX

PAR

Le Dr V. de GIAXA

PROFESSEUR A L'INSTITUT D'HYGIÈNE DE L'UNIVERSITÉ DE PISE

L'emploi de la chaux caustique sous forme solide ou de lait de chaux remonte à une époque lointaine. On a employé la chaux caustique pour détruire les cadavres, pour empêcher la putréfaction des matières organiques et spécialement pour blanchir les parois des habitations, cela, non seulement dans le but de leur donner une blancheur recherchée, mais aussi parce que l'on était convaincu que l'on facilitait ainsi la propreté des locaux. La confiance que l'on accordait à la chaux caustique allait même plus loin, puisqu'on la croyait capable de détruire les germes, alors encore inconnus, des maladies infectieuses. C'est ainsi que l'emploi de la chaux caustique fut recommandé et souvent adopté par les autorités, dans le but d'obtenir la parfaite désinfection des objets variés qui avaient été en contact avec des matières susceptibles d'être le véhicule de maladies infectieuses.

Aujourd'hui encore, alors que les progrès de la bactériologie donnent des directions plus sûres dans le choix des différents moyens de désinfection, l'emploi de la chaux caustique pour détruire les germes infectieux trouve son application et est même recommandé. De nombreuses autorités municipales prescrivent le blanchiment au lait de

chaux des parois des locaux dans lesquels ont séjourné des personnes atteintes de maladies infectieuses. Dans quelques pays on avait et on a encore aujourd'hui l'habitude d'enduire de lait de chaux les objets souillés par les sécrétions ou les excrétions des malades ou des animaux atteints de maladies infectieuses. En Angleterre par exemple, avant de nettoyer et de laver les parties des wagons de chemins de fer qui ont été en contact avec la tête des animaux transportés, ou souillées par leurs déjections, on les blanchit au lait de chaux. Dans les instructions relatives à la prophylaxie de la tuberculose récemment soumises par Villemin à l'Académie de médecine de Paris, il est recommandé de badigeonner au lait de chaux différents objets contaminés par des phtisiques.

Les recherches auxquelles on s'est livré depuis quelques dizaines d'années sur l'action des différents désinfectants ont, avec raison, porté aussi sur la chaux caustique. En 1869, Virchow et Hausmann, chargés d'étudier s'il convenait d'employer le désinfectant de Süvern pour la désinfection des eaux de canalisation, firent des recherches pour établir la manière de se comporter des microorganismes sous l'action de la chaux caustique, et ils constatèrent, que déjà avec l'adjonction de 1 à 5 p. 100 de cette substance, les microorganismes contenus dans un liquide disparaissent pour se retrouver privés de mouvement dans les sédiments. Toutefois, 6-12 jours après, les bactéries avaient recommencé à y pulluler. En 1873, la Commission allemande nommée pour étudier la prophylaxie du choléra asiatique, recommanda la chaux caustique, comme moyen de désinfection des déjections cholériques.

Plus tard, différentes recherches expérimentales furent instituées pour établir la valeur de la chaux caustique, en particulier comme moyen de destruction des germes pathogènes, soit sous la forme d'eau ou de lait de chaux, soit sous la forme de substance solide incorporée aux liquides à désinfecter. En 1881 déjà, M. Robert Koch démontra que l'eau de chaux est susceptible d'empêcher en partie et de ralentir le développement des spores charbonneuses. Dans la suite, les travaux de Liborius, Kitasato, Pfuhl, C. Fränkel, Vffelmann, Richard et Chantemesse et

d'autres encore prouvèrent l'efficacité de la chaux pour la désinfection des matières fécales contenant les bacilles du choléra et du typhus, pour celle de l'eau, etc. etc., même en l'employant à des doses relativement petites, ajoutées aux matières à désinfecter.

En 1889, Jäger, convaincu des avantages que présenterait, à plusieurs égards, l'emploi de la chaux caustique pour la désinfection non seulement des liquides, mais aussi des parois et d'autres objets souillés par des matières infectieuses, étendit ses recherches à un plus grand nombre de bactéries pathogènes et non pathogènes et étudia l'action désinfectante produite par le blanchiment au lait de chaux sur des fils de soie imprégnés des microorganismes qu'il mettait en expérience. Il résulta de ses recherches que, dans les conditions dans lesquelles il opérait, la chaux se montrait capable de détruire en peu de temps bon nombre de microorganismes, tandis que son effet était nul à l'égard de quelques bactéries douées d'un plus grand pouvoir de résistance.

En considération du fait que l'on a recours dans la plupart des cas au blanchiment des parois par le lait de chaux, non seulement dans un but de propreté, mais souvent aussi dans l'intention de les désinfecter d'une façon efficace et tenant compte du fait que ce moyen de désinfection serait indubitablement le plus approprié, tant à cause de la facilité de son emploi et de l'absence de danger qui accompagne son application, que du peu de frais qu'il occasionne, il m'a paru utile de déterminer son action par des recherches adaptées à ce but.

Les différents moyens employés jusqu'ici pour la désinfection des murs (abstraction faite des tapisseries) sont ou physiques, ou chimiques. Parmi les premiers, figurent comme moyens mécaniques, le grattage, les frictions avec l'éponge et avec de la mie de pain. Laissant de côté, la question de savoir, si ceux-ci donnent une garantie suffisante d'une désinfection parfaite, quand ils ne sont pas employés avec la plus scrupuleuse exactitude, ils doivent, selon ma manière de voir, se montrer insuffisants, le grattage excepté, toutes les fois qu'il s'agit de désinfecter des parois sur lesquelles se sont désséchés des crachats ou des

matières fécales infectieuses. On ne saurait non plus considérer ces moyens de désinfection comme n'impliquant aucun danger pour ceux qui les mettent en pratique, soit en raison de la possibilité de l'introduction de germes dans les voies respiratoires (grattage), soit par suite des infections indirectes que pourrait provoquer le dépôt de germes sur les mains, les habits, etc. Les moyens physiques de désinfection, abstraction faite de la ventilation, comprennent aussi la désinfection des parois par la chaleur, en faisant agir une flamme directement sur celles-ci, soit en employant la vapeur d'eau à haute température. La désinfection par une flamme (de gaz) exige beaucoup de temps et une exécution assez diligente, attendu que la chaleur ne se répand pas facilement sur un mur, en sorte que celui-ci doit être désinfecté place par place, ce qui prend un temps très long ; en outre, on n'a pas partout les conduites de gaz nécessaires à sa disposition. C'est aussi pourquoi l'on a rarement recours à ce mode de désinfection pour les parois. Il serait plus facile de les désinfecter au moyen de la vapeur d'eau sous pression ou surchauffée, dont l'efficacité serait indubitable. Tel ne sera toutefois pas le cas dans la pratique, car quelque court que soit l'espace qui sépare le point de sortie de la vapeur de la paroi, la vapeur ne conservera certainement pas sa température élevée, qui doit dépasser 100° et dont l'action devrait être prolongée pendant quelque temps, si l'on veut être certain de l'efficacité de la désinfection du moment où il s'agit de bactéries à formes résistantes.

Pour ce qui est des agents chimiques appliqués à la désinfection des murs, on emploie avec avantage dans quelques cas l'action de substances gazeuses telles que le chlore, l'anhydride sulfureux, le brome, les vapeurs de sublimé corrosif, etc. ; dans d'autres cas, on a recours à des substances chimiques dissoutes avec lesquelles on lave les parois. En ce qui concerne l'emploi des substances gazeuses, les nombreuses recherches expérimentales que l'on a faites sur leur efficacité, n'ont pas réussi à donner une garantie suffisante de l'obtention d'une désinfection parfaite par leur moyen. Et si l'on arrivait à obtenir un tel effet, cela ne serait que grâce à l'emploi de précautions minutieuses telles que

la fermeture hermétique du local, et une humectation suffisante des objets, choses difficiles à faire exécuter d'une manière convenable dans des désinfections journalières d'habitations. On ne saurait non plus oublier que l'emploi de ces substances peut être fatal pour les personnes et qu'il exige souvent l'évacuation des locaux à désinfecter afin de préserver les nombreux objets qui pourraient être attaqués par ces gaz. Souvent aussi, il faut encore enlever (surtout quand elles sont toxiques) les substances qui se déposent sous forme solide sur les parois. Il y a, par conséquent, assez de motifs pour que l'hygiène n'accepte qu'avec une grande réserve l'emploi des substances gazeuses dans la désinfection des locaux.

Dans la longue série des substances qui sont capables de détruire les bactéries pathogènes et qui peuvent être employées à l'état liquide, il n'y en a qu'un nombre restreint qui puisse être employé à la désinfection des murs, du moment où l'on demande qu'elles soient d'un usage facile et inoffensif et qu'elles répondent aux exigences économiques. En général, on peut affirmer que leur emploi sur une vaste échelle, reste limité à l'acide carbolique et au sublimé corrosif. Les inconvénients que présentent ces deux substances dans la désinfection des parois, sont variés et il est superflu de les énumérer ici. Je relèverai cependant le fait que quand on emploie une de ces substances pour badigeonner des murs, il faut presque toujours les refaire blanchir après, ce qui, à cause des frais que cela entraîne, doit aussi être pris en considération surtout quand il s'agit d'habitations pauvres, d'établissements, etc.

Il est hors de doute que le lait de chaux constituerait pour la désinfection murale habituelle, le meilleur désinfectant, tant au point de vue de la facilité de son emploi, qu'au point de vue de la dépense relativement modérée et unique qu'il nécessite, étant admis, naturellement que son action désinfectante soit suffisante. Pour ce motif, j'ai voulu étudier expérimentalement l'intensité de cet effet à l'égard de quelques espèces de bactéries pathogènes, convaincu de la diversité d'action d'un désinfectant et me rappelant que cette question n'avait pas encore

été examinée et que les recherches expérimentales sur la chaux caustique, celles de Jäger exceptées, n'avaient pas été conduites de manière à pouvoir en tirer un criterium de l'action désinfectante du blanchiment des parois au lait de chaux. Car il est certain que le mode d'agir du lait de chaux, employé au badigeonnage des murailles, diffère de celui de l'adjonction de ce désinfectant à des liquides riches en bactéries, tant en raison de la plus grande quantité de chaux qui peut être ajoutée au liquide que de l'action différente que l'acide carbonique de l'air exerce sur la chaux. Lorsqu'on ajoute du lait de chaux à un liquide, la chaux caustique se change presque exclusivement en sels calcaires inactifs par suite de la décomposition des matières contenues dans le liquide, tandis que l'acide carbonique de l'air n'exerce qu'éventuellement son action sur la chaux contenue dans les couches supérieures du liquide. De plus, dans ce cas, l'action de la chaux est favorisée par le fait que la matière à désinfecter se trouve dans un liquide. Le blanchiment des parois au lait de chaux, au contraire, se fait dans des conditions susceptibles de diminuer l'action du désinfectant. Avant tout, la quantité de lait de chaux qui peut se déposer sur les parois est limitée, et la chaux elle-même se trouve bientôt en contact avec l'air atmosphérique qui transforme la chaux caustique en une combinaison inactive, d'autant plus vite, qu'il est plus riche en acide carbonique. Il faut donc admettre que l'action désinfectante de la chaux caustique avec laquelle on badigeonne une surface, doit, pour être efficace, s'exercer dans un temps relativement court, attendu qu'autrement on n'obtiendrait d'autre résultat que de recouvrir d'une couche protectrice les bactéries déposées sur les murs. Or, on peut dire que toutes les recherches exécutées jusqu'ici sur des liquides infectieux ne donnent aucun critérium applicable à la recherche de l'action désinfectante du lait de chaux employé pour le crépissage des parois ; seules, celles de Jäger sont partiellement utilisables. Je dis partiellement seulement, car Jäger a expérimenté avec des fils de soie imprégnés des bactéries mises en expérience, c'est-à-dire avec un matériel différent de celui qui a été l'objet de mes recherches. De plus, dans ses expériences avec les bactéries

pathogènes sur lesquelles aussi ont porté mes expériences, Jäger ne laissait s'écouler que deux heures seulement entre le dernier badigeonnage et les essais de culture ou d'inoculation, circonstance apte à diminuer la valeur de ses recherches, attendu que l'on ne saurait exclure la possibilité qu'une action plus prolongée de la chaux caustique, poussée éventuellement jusqu'à la dessication, puisse exercer une influence majeure sur la destruction des bactéries.

Pour ne pas ôter à ce mode de désinfection des parois la plus grande partie des avantages qui doivent en faciliter et même en recommander l'adoption, j'ai employé dans mes recherches le lait de chaux dont font usage habituellement les peintres en bâtiments et m'en suis servi à peu près de la même manière qu'eux. M'étant procuré de la chaux caustique commune employée pour le crépissage des murailles, j'en pesai une portion et l'éteignis avec un peu d'eau, avec laquelle je préparai du lait de chaux à 20 p. 100 et 50 p. 100, et la conservai ensuite dans des vases de verre munis d'un bouchon rodé. Les deux liquides, traités à l'acide chlorhydrique dilué devenaient parfaitement limpides, sans développement d'acide carbonique, en déposant au fond une très petite quantité de grains de sable. Pendant toute la durée de mes recherches le lait de chaux conserva les mêmes caractères. Je me suis limité à l'emploi du lait de chaux à 50 p. 100, celui-ci représentant, d'après l'avis de personnes du métier, le maximum de densité dont on puisse faire usage dans le badigeonnage des murs. Les expériences se firent sur une partie de la paroi (muraille) d'une chambre de notre Institut d'hygiène, qui est exposée au midi et n'avait pas été peinte depuis des années. La surface employée de 30 centimètres carrés fut divisée en trois portions, chacune de 30 $\times$ 10 centimètres carrés, et séparées entre elles par une gouttière d'un 1/2 centimètre creusée dans la paroi. Pour éviter la chute des poussières sur cette partie de la paroi, sans empêcher le libre accès de l'air; on étendit sur celle-ci un châssis en bois recouvert d'une fine mousseline et d'une mince couche de ouate. Avant de déposer sur la paroi les bactéries infectantes, celle-ci était chaque fois stérilisée longuement et soigneusement au moyen d'une grosse flamme de gaz, j'ai pu me convaincre

plusieurs fois que l'on obtient ainsi une stérilisation parfaite. Après chaque expérience, j'enlevais de la portion blanchie de la paroi, la couche de chaux qui y avait été déposée en dernier lieu ; au début, je le faisais au moyen d'un léger grattage, dans la suite, en la nettoyant bien avec une éponge mouillée.

L'infection de la paroi se pratiquait en étendant sur les trois portions les matières infectieuses (liquides de cultures, crachats, sang), au moyen d'un petit pinceau stérilisé. Après avoir donné à la paroi le temps de sécher en partie, de façon à ce que les bactéries y restassent fixées, une des portions (A) était laissée intacte, la seconde (B) était blanchie au lait de chaux à 20 p. 100 et la troisième (C) avec celui à 50 p. 100. Pour le badigeonnage je me servais d'un pinceau de badigeonneur préalablement trempé dans une solution d'acide phénique à 5 p. 100 et tenu ensuite pendant 4 heures sous le jet de la conduite d'eau, eau fort pauvre en microorganismes et dont aucun ne s'était montré capable de résister à l'action du lait de chaux à 20 p. 100. 24 heures après le badigeonnage, pendant lesquelles la partie de la paroi mise en expérience restait protégée par le châssis, on procédait à la constatation des résultats dus au badigeonnage. A cet effet, la portion A me servait de contrôle, en particulier pour juger de l'action éventuelle due à la dessication rapide des bactéries. De petits morceaux d'éponges nettoyés par la cuisson dans une solution de permanganate de potasse, puis décolorés par l'acide oxalique et lavés avec soin jusqu'à constatation de la réaction neutre de l'eau de lavage, étaient stérilisés à l'autoclave dans des tubes de verre pendant une demi-heure. Avec un de ces morceaux, maintenu bien humide et fixé entre les branches d'une pincette de dissection, on essuyait tout ou moitié de la portion A (dans ce dernier cas on laissait une moitié intacte pour le contrôle futur des deux autres portions blanchies une seconde fois). Le morceau d'éponge était alors plongé dans un tube à essai contenant 10 centimètres cubes d'eau distillée stérilisée et y était exprimé à plusieurs reprises. Après avoir agité le liquide on en faisait des plaques (1 centimètre cube) et des inoculations sur des animaux. Avec des morceaux d'éponge

pareils humectés encore davantage avec de l'eau distillée stérilisée, j'humectais tout ou moitié des portions B et C et j'enlevais avec un couteau flambé l'enduit que je recueillais sur une plaque de verre stérilisée, je le mélangeais alors avec 10 centimètres cubes d'eau distillée privée de germes et, après avoir bien agité le tube, j'en faisais des cultures et des inoculations aux animaux. — Dans plusieurs expériences, les portions B et C furent blanchies une seconde fois et analysées 24 heures après, de la même façon par des cultures et des inoculations, en se servant cette fois de la moitié de chaque portion laissée intacte le jour précédent. J'ai pu me convaincre plusieurs fois que l'eau avec laquelle on mélangeait la chaux enlevée par le grattage ne donnait plus qu'une réaction légèrement alcaline (par suite de la réduction de la chaux en carbonate) et qu'elle ne pouvait pas empêcher le développement des microorganismes étudiés, attendu qu'en l'ajoutant à la dose d'un centimètre cube à de la gélatine inoculée avec les mêmes microorganismes et coulée en plaques, on pouvait constater la croissance normale des colonies.

J'ai expérimenté avec les six microorganismes suivants : le bacille et les spores du charbon, le bacille du typhus, le bacille du choléra, le *Staphylococcus pyogenes aureus*, le bacille de la tuberculose et bacille du tétanos.

BACILLE DU CHARBON

Expérience 1. — Un cobaye inoculé avec une culture de charbon meurt en 38 heures. La moitié de la rate de l'animal, autopsié 8 heures après la mort, est broyée dans un mortier et mélangée avec 15 centimètres cubes d'eau distillée stérilisée de façon à former une bouillie peu épaisse, et on en enduit les 3 portions de la paroi ; en même temps 1/2 centimètre cube est inoculé dans la cavité péritonéale d'un cobaye et l'on fait une plaque avec 10 centimètres cubes de gélatine ensemencée avec 1/10 de centimètre cube, (le cobaye meurt du charbon en 48 heures et la plaque donne naissance à un grand nombre de colonies de charbon). Trois heures plus tard on blanchit la portion B (20 p. 100) et la portion C (50 p. 100). Vingt-quatre heures plus tard on procède à l'examen en faisant les plaques avec 10 centimètres cubes de gélatine additionnée d'un 1/2 centimètre cube de l'eau dans laquelle on a délayé les matières enlevées des 3 portions. Deux centimètres cubes

de la même eau de chaque portion sont injectés dans la cavité péritonéale de 3 cobayes. Les portions B et C sont ensuite blanchies une seconde fois et examinées de la même façon 24 heures plus tard.

Résultat :

Portion A { Après 24 heures : maigre développement de colonies de charbon. Mort du cobaye après 36 heures.
Après 48 heures : développement de rares colonies de charbon. Le cobaye meurt après 44 heures.

Portion B { Après 24 heures : aucun développement de colonies. Le cobaye reste en vie
Après 48 heures : »

Portion C { Après 24 heures : »
Après 48 heures : »

Expérience 2. — La rate d'une souris, morte 24 heures après inoculation d'une culture charbonneuse, assez riche en bacilles, est triturée dans 10 centimètres cubes d'eau distillée stérilisée. On en badigeonne le mur. Après 4 heures blanchiment au lait de chaux. On procède à l'examen 24 heures plus tard. Les plaques sont faites avec 1/2 centimètre cube. De chaque portion on inocule 1/4 de centimètre cube à des souris blanches.

Résultat :

Portion A. — Après 24 heures : développement de peu de colonies de charbon. Les deux souris meurent du charbon après 24 heures.

Portion B. — Après 24 heures : aucun développement de colonies. Les 2 souris restent en vie.

Portion C — Après 24 heures : »

SPORES CHARBONNEUSES

Expérience 3. — On emploie une vieille culture de charbon dont la sporulation sur agar est entièrement terminée. Deux souris inoculées meurent en 18 à 24 heures. La surface de l'agar est triturée dans 5 centimètres cubes d'eau distillée et stérilisée qu'on élève à 15 centimètres cubes. On en enduit les 3 portions. Après

3 heures on blanchit les portions B et C. Vingt-quatre heures plus tard on procède à l'examen d'une moitié de chacune des 3 portions ; les cultures se font avec 1/2 centimètre cube de l'eau de lavage pour 10 centimètres cubes de gélatine et les inoculations (cobayes) avec 2 centimètres cubes. On blanchit une seconde fois B et C et on renouvelle l'examen après 24 heures.

Résultat :

Portion A
- Après 24 heures : abondant développement de colonies charbonneuses. Le cobaye meurt en 18 heures.
- Après 48 heures : abondant développement de colonies charbonneuses. Le cobaye meurt en 36 heures.

Portion B
- Après 24 heures : développement notable de colonies charbonneuses. Le cobaye meurt en 24 heures.
- Après 48 heures : développement notable de colonies charbonneuses. Le cobaye meurt en 36 heures.

Portion C
- Après 24 heures : développement notable de colonies charbonneuses. Le cobaye meurt en 40 heures.
- Après 48 heures : développement notable de colonies charbonneuses. Le cobaye meurt en 36 heures.

Il résulte donc de ce qui précède que le *Bacille du charbon* qui, sur la portion A, s'était maintenu vivant et virulent pendant 24 heures et n'avait après 48 heures accusé qu'une diminution marquée dans le nombre de ses colonies alors qu'il avait conservé sa virulence, a été entièrement détruit par un seul badigeonnage sur les portions B et C, recouvertes d'un lait de chaux à 20 p. 100. Quant aux spores charbonneuses, il reste, au contraire, manifestement démontré qu'elles résistent même à un badigeonnage répété de lait de chaux à 50 p. 100.

BACILLE DU TYPHUS

Expérience 4. — Une culture de 4 jours sur agar à 35° est délayée dans 5 centimètres cubes d'eau stérilisée et amenée à 15 centimètres cubes. Avec 1/2 centimètre cube de cette dilution on fait 3 plaques (on obtient un développement assez abondant de colonies typhiques. On en enduit les 3 portions et après 4 heures on blanchit B et C. 24 heures plus tard on procède à l'examen en employant 1/5 de centimètre cube pour les plaques.

Résultat :

Portion A. — Après 24 heures : développement notable de colonies typhiques.
Portion B. — Après 24 heures : développement de très rares colonies typhiques.
Portion C. — Après 24 heures : aucun développement.

Expérience 5. — Culture de bacilles typhiques dans du bouillon à 30°, âgée de 3 jours (abondant développement). On en enduit les 3 portions. Après 2 heures on blanchit B et C. 24 heures plus tard on procède à l'examen, en employant 1/3 de centimètre cube pour les plaques.

Résultat :

Portion A. — Après 24 heures : abondant développement de colonies typhiques.
Portion B. — Après 24 heures : développement de rares colonies typhiques.
Portion C. — Après 24 heures : aucun développement.

Pour détruire complètement le *bacille typhique* un seul badigeonnage avec le lait de chaux à 20 p. 100 ne suffit donc pas, tandis qu'à 50 p. 100 son action est complète.

BACILLE DU CHOLÉRA ASIATIQUE

Expérience 6. — Culture cholérique sur agar de 2 jours à 22°, assez bien développée. La surface de l'agar est délayée dans 5 centimètres cubes d'eau stérilisée et amenée à 15 centimètres cubes. On en enduit les 3 portions. Après 1 heure, badigeonnage à la chaux. 6 heures plus tard (afin d'éviter une dessication totale) on procède à l'examen, en faisant les plaques avec 1 centimètre cube de l'eau de lavage.

Résultat :

Portion A. — Après 6 heures : très maigre développement de colonies cholériques.
Portion B. — Après 6 heures : aucun développement.
Portion C. — id. id.

Le *bacille du choléra* sur lequel agit déjà la dessication partielle dans la portion A est entièrement détruit par le simple badigeonnage au lait de chaux à 20 p. 100.

STAPHYLOCOCCUS PYOGENES AUREUS

Expérience 7. — Culture de *Staphylococcus pyogenes aureus* de 3 jours dans du bouillon à 22°. On en enduit les 3 portions. Après 3 heures, on badigeonne B et C. 24 heures plus tard on procède à l'examen en faisant les plaques avec 1/2 centimètre cube de l'eau.

Résultat :

Portion A. — Après 24 heures : développement très riche de colonies de staphylocoque.

Portion B. — Après 24 heures : développement modéré de colonies de staphylocoque.

Portion C. — Après 24 heures : aucun développement.

Expérience 8. — Culture de *Staphylococcus pyogenes aureus* de 3 jours sur agar à 35°, délayée dans 5 centimètres cubes d'eau stérilisée et amenée à 20 centimètres cubes. On en enduit la paroi et on badigeonne après 3 heures. 24 heures plus tard on procède à l'examen, en faisant les plaques avec 1/5 de centimètre cube.

Résultat :

Portion A. — Après 24 heures : très abondant développement de colonies de staphylocoque.

Portion B. — Après 24 heures : développement de rares colonies de staphylocoque.

Portion C. — Après 24 heures : développement de 3 colonies.

Expérience 9. — Culture de *Staphylococcus pyogenes aureus* de 3 jours sur agar à 35°, délayée dans 5 centimètres cubes d'eau stérilisée et amenée à 15 centimètres cubes. On en enduit le mur, et 3 heures après on badigeonne B et C. 24 heures plus tard, on blanchit une seconde fois et après 24 heures on procède à l'examen, en faisant les cultures avec 1/2 centimètre cube.

Résultat :

Portion A. — Après 48 heures : assez abondant développement de colonies de staphylocoque.

Portion B. — Après 48 heures : développement de très rares colonies de staphylocoque.

Portion C. — Après 48 heures : aucun développement.

Il résulte donc de ceci que le *Staphylococcus pyogenes aureus* est doué d'une certaine force de résistance à l'égard de la chaux caustique, attendu qu'il n'est entièrement détruit qu'après un badigeonnage répété au lait de chaux à 50 p. 100.

Expérience 10. — Un crachat de phtisique, assez riche en bacilles, est délayé, dans un mortier de verre, avec 10 centimètres cubes d'eau stérilisée. On en inocule 1 centimètre cube dans la cavité péritonéale d'un cobaye (qui meurt tuberculeux après 2 1/2 mois). On en enduit les 3 portions et 10 heures après on blanchit B et C. Vingt-quatre heures plus tard on inocule 2 cobayes dans la cavité péritonéale avec 2 centimètres cubes de l'eau de lavage de chacune des portions A, B et C, puis on blanchit B et C une seconde fois, et vingt-quatre heures plus tard on répète les inoculations de la même manière.

Résultat :

Portion A { Après 24 heures : les deux cobayes meurent de tuberculose généralisée après environ 3 mois.
Après 48 heures : id.

Portion B { Après 24 heures : les deux cobayes meurent de tuberlose généralisée après plus de 3 mois.
Après 48 heures : un des cobayes meurt tuberculeux après environ 3 mois ; le second vit encore (environ 4 mois après inoculation) avec les signes manifestes d'une tuberculose très avancée.

Portion C { Après 24 heures : les 2 cobayes meurent tuberculeux après plus de 2 mois.
Après 48 heures : l'un des cobayes meurt tuberculeux après 2 mois 1/2, l'autre après environ 4 mois.

Expérience 11. — Crachat assez riche en bacilles tuberculeux. On le délaye dans 15 centimètres cubes d'eau distillée stérilisée et on en enduit les 3 portions. Six heures après, on blanchit B et C et on renouvelle le badigeonnage au bout de 24 heures. Le jour suivant, on inocule de chacune des 3 portions, 2 centimètres cubes de l'eau de lavage dans la cavité péritonéale de deux cobayes.

Résultat :

Portion A. — Après 48 heures : un des cobayes meurt en 24 heures d'une péritonite ; le second après 3 mois de tuberculose généralisée.

Portion B. — Après 48 heures : l'un des cobayes meurt tuberculeux après 3 1/2 mois, l'autre vit encore (4 mois après l'inoculation) avec les signes d'une tuberculose avancée.

Portion C. — Après 48 heures : un des cobayes meurt 3 jours après d'une péritonite, l'autre, bien que vivant actuellement (4 mois après l'inoculation) est manifestement tuberculeux.

De ces résultats on peut conclure que la chaux caustique est inefficace à l'égard du *bacille de la tuberculose*.

BACILLE DU TÉTANOS

Expérience 12. — Vieille culture (de 5 mois), du bacille tétanique sur sérum de sang, entièrement liquéfié. Trois gouttes sont diluées dans 6 centimètres cubes d'eau et injectées dans le tissu sous-cutané d'un lapin qui meurt en 40 heures. Deux centimètres cubes du liquide de culture sont versés dans 13 centimètres d'eau stérilisée et on en enduit les 3 portions. Six heures après, badigeonnage de B et C. Vingt-quatre heures plus tard, on procède à l'examen de la moitié de A, B et C, en inoculant à 3 lapins 2 centimètres cubes des 10 centimètres cubes de l'eau de lavage de chacune des 3 portions. On blanchit une seconde fois B et C et après un jour, on répète les inoculations de la même manière.

Résultat :

Portion A
- Après 24 heures : le lapin meurt en 24 heures avec les symptômes du tétanos aigu.
- Après 48 heures : le lapin reste en vie.

Portion B
- Après 24 heures : le lapin meurt tétanique après 36 heures.
- Après 48 heures : le lapin meurt de tétanos (paralysé) après 25 jours.

Portion C
- Après 24 heures : le lapin meurt du tétanos en 72 heures.
- Après 48 heures : le lapin meurt du tétanos (paralysé) après 22 jours.

Les résultats obtenus en ce qui concerne le *bacille du tétanos* présentent un certain intérêt en ce sens que l'action prolongée de la chaux concourrait à atténuer la virulence du bacille, en pro-

duisant des manifestations tardives du tétanos sous forme de paralysie. Ceci, toutefois, n'est qu'une supposition permise qui demande à être confirmée par d'autres expériences plus rigoureuses et plus nombreuses, vu que dans la seule série d'expériences faites par moi, un des animaux s'est montré réfractaire au tétanos, ce qui permettrait de supposer qu'il existait, chez les animaux inoculés avec l'eau du lavage des portions de la paroi blanchie deux fois, une diminution de la disposition ou une autre circonstance capable de retarder la manifestation des symptômes dus à l'inoculation. Dans tous les cas, il en résulte que même le badigeonnage répété avec le lait de chaux à 50 p. 100 n'a pas détruit le bacille du tétanos.

Le résultat de ces recherches est tel que l'on peut en déduire des conclusions assez positives. Avant tout, il convient de faire remarquer que les résultats obtenus relativement à la destruction totale des bacilles du charbon du typhus et du choléra, concordent complètement avec ceux auxquels sont arrivés d'autres expérimentateurs au sujet de l'action désinfectante de la chaux caustique dans des liquides infectés avec ces bactéries. Mes résultats sont aussi identiques à ceux de Jäger en tant qu'ils concernent les bactéries que nous avons étudiées tous les deux. Il en résulte aussi que les spores du charbon et les bacilles de la tuberculose résistent à l'action de la chaux caustique et que leur virulence n'en est pas modifiée, alors même que cette action est prolongée et répétée. On peut dire la même chose jusqu'à un certain point, du bacille tétanique. A mon avis on ne peut guère espérer un meilleur résultat d'un badigeonnage des surfaces répété plusieurs fois, attendu que quand on a blanchi la paroi deux fois, il se dépose certainement à la surface une couche de chaux qui protège les bactéries sous-jacentes de l'action ultérieure des badigeonnages à la chaux.

Si l'on demande maintenant quelle sera l'application pratique de ces résultats, en ce qui concerne l'action désinfectante du blanchiment au lait de chaux des parois des habitations et autres locaux, on voit que les recherches expérimentales nous donnent un criterium assez net au sujet de ce mode de désinfection. En effet les murs des locaux dans lesquels auront stationné des typhiques ou des cholériques pourront être parfaitement désinfectés par un simple

blanchiment au lait de chaux à 50 p. 100 (typhus) et à 20 p. 100 (choléra). Au contraire quand il s'agira d'une infection des parois par le bacille du charbon (tenant compte du fait que celui-ci peut facilement rencontrer des conditions favorables à la sporulation), de la tuberculose, du tétanos, la désinfection des parois par le blanchiment au lait de chaux sera toujours insuffisante, même en le répétant et en employant des badigeons à 50 p. 100. Il faudra donc dans ce cas, recourir à un désinfectant plus actif. Pour la destruction du *Staphylococcus pyogenes aureus* une action prolongée de la chaux caustique est nécessaire, ainsi, par exemple, dans les hôpitaux, le blanchiment des parois au lait de chaux à 50 p. 100 devra être répété deux fois, pour amener la destruction complète de ces germes.

DES GAZ PRODUITS PAR LA FERMENTATION ANAEROBIENNE (1)

PAR

Le Dr V. BOVET

PRIVAT DOCENT A L'UNIVERSITÉ DE BERNE

Depuis les travaux des Boussingault, de Méné, de Hartung et Guning (2), de Wolff (3), de Zimmermann (4), on sait que les plantes ne puisent pas leur azote dans l'air mais bien dans le sol. Dehérain (5) et plus tard Truchet (6) ont prouvé que l'humus absorbait l'azote de l'air et réparait ainsi les pertes dues à la nutrition des végétaux. Berthelot (7) Gautier et Drouin (8), enfin jetèrent un nouveau jour sur cette question en démontrant que cette propriété du sol était due à des microorganismes et que l'humus stérilisé n'était plus en état de s'approprier l'azote de l'atmosphère. Il est donc hors de doute aujourd'hui, qu'ici encore, c'est à des microbes qu'il faut attribuer un phénomène des plus importants.

Les microorganismes sont-ils aussi capables de produire et de dégager de l'azote libre dans le sol ou d'en d'autres substances ? Voilà une question qu'il n'était pas moins important de résoudre. Cette question ne présente pas seulement un intérêt théorique, elle est d'une importance réelle et pratique. En agriculture par exemple un procédé bien

(1) Ces expériences ont été faites dans le laboratoire de M. le professeur M de Nencki.

(2) *Comptes rendus*, tom. 38, t. 32, t 41.

(3) *Preus. Anal. d. Landwwirtsschaft.*

(4) *Oeconom. Fortschritt*, 1871.

(5) *Comptes rendus*, t. 73, t. 76.

(6) *Comptes rendus*, t. 81.

(7) *Comptes rendus*, t. 101.

(8) *Comptes rendus*, t. 106,

connu de conservation des fourrages et d'autres denrées consiste à entasser et à comprimer autant que possible ces matières pour les soustraire à l'action de l'air ; les gaz produits par la fermentation qui se développe dans cette masse ne tardent pas à chasser l'air qu'elle peut encore contenir et il ne peut à partir de ce moment, plus être question que d'une fermentation anaërobie dans la substance. Si les microorganismes en cause jouissaient de la propriété de dégager non seulement de l'acide carbonique, de l'hydrogène, etc., mais encore des quantités plus ou moins notables d'azote à l'état gazeux, les pertes subies par la matière à conserver deviendraient considérables et le procédé perdrait de sa valeur.

La même question se pose à propos des engrais qu'on laisse fermenter pendant un temps assez long avant de les employer et pour lesquels, au déficit subi par suite du dégagement de l'acide carbonique, de l'ammoniaque, etc., viendrait s'ajouter encore la perte d'une quantité notable d'azote libre.

La question de savoir dans quelles circonstances et si les microbes sont capables de dégager de l'azote libre n'est du reste pas exclusivement du domaine de l'agriculture, elle appartient aussi à la bactériologie, ainsi qu'à la physiologie, intimement liée aux phénomènes de la digestion. On sait que dans le tube digestif les aliments ne sont pas seulement dissous et chimiquement transformés en vue de l'absorption, mais qu'ils subissent en outre une fermentation partielle dont les nombreux microorganismes de l'intestin sont les agents. Cette fermentation fournit-elle de l'azote libre et quel est le sort de ce gaz ainsi soustrait aux matières azotées? Ruge déjà a démontré la présence de 35 à 45 p. 100 d'azote dans les gaz intestinaux. Cet azote provient-il de l'air ingéré avec les aliments ou de la décomposition de ces derniers? Voilà des questions qui mériteraient d'être reprises, pour notre part nous avons l'intention de faire des essais sur la fermentation provoquée par certains microbes de l'intestin, le *Bacillus coli communis* par exemple.

Un grand nombre d'auteurs ont fait des recherches relatives au dégagement de l'azote dans la fermentation.

Wollny (1) déjà avait attiré l'attention sur le rôle que les microbes jouent dans la décomposition du sol. Les travaux concernant la nitrification et la dénitrification de Schœlesing et Müntz (2), de Warrington (3), de Gayon et de Dupetit (4), etc. ont démontré, que dans l'eau contenant des sels ammoniacaux et en l'absence de substances organiques pouvant être attaquées par des microorganismes réducteurs, il se développe un ferment qui transforme les sels ammoniacaux en nitrites et en nitrates, qu'en présence de substances organiques (sucre, glycérine, etc.) par contre c'est le phénomène inverse qui se produit, ce sont les nitrites et les nitrates qui sont transformés en sels ammoniacaux. Dans l'un comme dans l'autre cas plusieurs auteurs ont cru observer un dégagement d'azote libre. Les nombreuses recherches entreprises pour déterminer la nature des fermentations provoquées par les microbes ont montré que les aërobies qui ont besoin pour vivre de l'oxygène libre de l'air livrent des produits d'oxydation, de l'acide carbonique, de l'acide nitrique, que les anaërobies qui se contentent de l'oxygène combiné fournissent des produits de réduction, c'est-à-dire à côté de l'acide carbonique, du gaz de marais, de l'hydrogène, de l'ammoniaque, de l'hydrogène sulfuré, du méthylmercaptan. Nous citerons les travaux de Dietzell (5). Encore ici plusieurs auteurs admettent le dégagement d'azote libre.

La plupart des expérimentateurs ont déterminé ces pertes en azote au moyen de l'analyse des substances en expérience avant et après la fermentation. Ce procédé, ainsi que le fait remarquer Ehrenberg, n'est pas sans inconvénients. Il n'est pas en effet impossible que pendant la fermentation il se produise au sein de ces substances des bases qui forment avec les acides des combinaisons peu stables, décomposables par la chaleur. Si donc au cours de l'analyse on chauffe ou l'on évapore au bain-marie, ces bases s'éva-

---

(1) *Vierteljschr f. œffentl-Gesundheitspflege*, 1883.
(2) *Comptes rendus*, t. 77.
(3) *Chem. News* t. 36, 1887, t. 39, 1879.
(4) *Comptes rendus*, XCV, 1882, II.
(5) *Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft*, 1882.

porent entraînant avec elles l'azote qu'elles contiennent et les pertes en azote que l'analyse avait précisément pour but de déterminer se trouvent faussement augmentées d'autant. C'est pour obvier à cet inconvénient que Ehrenberg (1) a cherché à déterminer les gaz produits par la fermentation en analysant directement ces gaz eux-mêmes. Dans ce but Ehrenberg abandonnait les substances diverses (mélange de poudre de sang, de terre, d'urine, bouillon peptonisé, etc.) à la fermentation dans des ballons hermétiquement clos dans lesquels l'air avait été remplacé par de l'oxygène ou de l'acide carbonique et disposés de façon à ce que les gaz dégagés pussent être recueillis. Après une première série d'essais, Ehrenberg arrivait aux conclusions suivantes : ni en présence de l'oxygène libre ni en l'absence de ce gaz pas plus dans les liquides que dans les substances moins humides, les microbes ne provoquent le dégagement d'azote gazeux. Des expériences de Tacke (2), publiées quelques mois plus tard, et démontrant la production de quantités considérables de ce gaz, par la fermentation de substances organiques en présence des nitrates, déterminèrent Ehrenberg à reprendre ses recherches et après ses derniers essais il arrivait à la conviction que des substances organiques qui ne produisent pas d'azote libre par la fermentation en dégagent si l'on y ajoute une certaine quantité de salpêtre. Il démontra en outre : que dans certaines substances, qui d'habitude produisent du gaz de marais, le dégagement de ce gaz est suspendu aussi longtemps qu'il reste dans le mélange des nitrates non décomposés ; que c'est précisément la décomposition de ces nitrates qui livre de fortes quantités d'azote.

La production d'azote libre en présence de nitrates, observée par Tacke et Ehrenberg, nous semble être due à un phénomène de réduction des nitrates en nitrites qui s'étend ensuite aux amido-acides formés par la décomposition de l'albumine en produisant des oxy-acides suivant la for-

(1) *Hoppe-Seyler Zeitschrift fr physiol. Chemie*, XI, 1887.
(2) *Chem. Zeitung*, X.
(3) *Zeitschnift f. physiol. Chemie*, XI, 1887, et XII, 1888.

mule :

$$NO^3H = NO^2H + O$$

puis

$$\underset{\text{leucine}}{NH^2\,(CH^2)^5\,CO^2H} + NO^2H = \underset{\text{acide leucique}}{OH\,(CH^3)^5\,CO^2H} + N^2 + H^2O$$

A peu près en même temps que Ehrenberg, Kellner et Yoshii (1), cherchaient à résoudre le problème par l'analyse des substances restant après la fermentation (farine de soya, poudre de viande de poissons, lait, asparagine, etc.). Ces auteurs arrivent à cette conclusion qu'en présence d'eau mise en quantité suffisante et en l'absence de nitrates ou de nitrites la fermentation des substances organiques ne fournit pas d'azote libre.

La plupart des auteurs mentionnés expérimentèrent avec divers mélanges de matières dans lesquels ils provoquaient la putréfaction par l'addition d'une certaine quantité de substances en décomposition sans avoir égard à telle ou telle espèce de microbes et gardaient ces substances en observation pendant un temps relativement long (de plusieurs mois à une année). Arloing (2) eut l'idée d'inoculer des matières fermentescibles avec des cultures pures. Les substances employées (blanc d'œuf, jaune d'œuf, peptone) furent mises dans des vases clos et exposés à la température de 35 degrés. Les gaz recueillis furent analysés à l'eudiomètre, les microbes anaërobies qui servirent à l'inoculation furent les virus de la septicémie gangréneuse de l'homme et du charbon symptomatique du bœuf. Les gaz recueillis avaient la composition suivante :

	Jaune d'œuf	Blanc d'œuf	Peptone
Acide carbonique. . .	53,24 0/0	69,01 0/0	87,04 0/0
Hydrogène.	29,69	27,72	8,60
Azote. . . . . ,	17,06	5,68	4,30

Comme on le voit, d'après Arloing la fermentation de ces

(1) *Zeitsçhrift f. Physiol. Chemie*, XII.
(2) *Comptes rendus*, t. 103, 1886.

trois substances produirait une certaine quantité d'azote et cette quantité atteindrait le 17 0/0 pour le jaune d'œuf. Nencki (1), par contre, dans ses expériences sur la décomposition de l'albumine par les microbes anaërobies, publiées il a y un an, n'a pas observé de dégagement d'azote dans la fermentation de l'albumine due au bacille du charbon symptomatique, du *Bacillus liquefacieus magnus* et *spinosus*. Ce résultat est d'autant plus remarquable que dans certaines expériences, Nencki avait employé pour chasser l'air de ses ballons de l'azote que les gaz de la fermentation n'avaient pas tardé à déplacer complètement. D'après Nencki la partie des gaz dégagés non absorbable par la potasse ne se composait que d'hydrogène, il ne s'était donc pas formé non plus de gaz de marais. Kerry (2) qui a observé le dégagement du gaz de marais pendant la fermentation de l'albumine sous l'influence du virus de la septicémie gangréneuse ne croit pas devoir conclure à un dégagement d'azote libre. Il attribue à des erreurs les petites quantités de ce gaz qu'il a rencontrées.

En présence de ces résultats contradictoires nous avons cru utile de reprendre ces expériences.

Les substances dont nous nous sommes servi ont été, l'albumine du sérum du sang et le jaune d'œuf mélangés à de l'eau dans la proportion de 5 0/0. Comme ferment nous avons fait exclusivement usage du virus du charbon symptomatique que M. le Dr Hess, professeur à l'école vétérinaire de Berne, a eu l'obligeance de mettre à notre disposition. Les inoculations ont été faites directement de l'animal ou avec des cultures pures. Pour les raisons indiquées plus haut, nous avons fait usage du procédé qui consiste à analyser les gaz eux-mêmes à l'eudiomètre.

Les expériences de Hoppe-Seyler ayant prouvé que à travers des tubes ou des bouchons de caoutchouc même

---

(1) *Sitzungsberichte d. Kais Akademie der Wissensch. in Wien*, XCVIII, II, 1889.

(2) *Sitzungsberichte d. Kais Akademie der Wissensch in Wien*, XCVIII, III. 1889.

assez épais, il peut se produire une certaine diffusion du gaz des appareils avec l'air atmosphérique, nous n'avons fait usage que de tubes de verre et de ballons soudés à la lampe et hermétiquement clos. Nous nous sommes servi de ballons d'une contenance d'un litre et demi environ (*fig.* 1) dont le col se terminait par deux tubes, dont l'un (*b*), recourbé en S servait à recueillir les gaz sous le mercure, l'autre plus large (*a*), plongeant jusqu'au fond du ballon, permettait l'introduction de l'eau et de l'albumine.

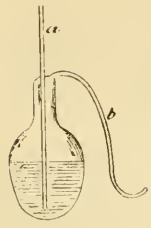


Fig. 1

a, Tube servant à introduire les substances fermentescibles — *b*, Tube abducteur des gaz.

Nous procédions de la façon suivante : 50 grammes d'albumine (ou de jaune d'œuf) et un litre d'eau, introduits dans le ballon et stérilisés à 130 degrés dans l'autoclave étaient infectés après refroidissement avec 2 cent. cubes environ de virus de charbon symptomatique, l'air contenu dans le ballon était chassé par un courant d'acide carbonique pénétrant par le tube *a* et sortant par le tube *b*, ce dernier plongeant dans une cuve à mercure. Cette opération terminée le tube (*a*) était fermé au chalumeau et le ballon fixé dans un bain-marie à 37 degrés. Il est de la plus haute importance, pour éviter toute cause d'erreur, de ne pas laisser trace d'air dans le ballon et pour cela il est nécessaire, non seulement de faire passer le courant de gaz pendant plus d'une heure, mais d'employer un acide carbonique absolument pur, ce qui n'est pas toujours aussi aisé à faire qu'on pourrait le croire. Nous avons obtenu les meilleurs résultats à cet égard avec du marbre pilé ou de la poudre de carbonate de chaux pure que nous faisions bouillir un certain temps dans l'eau avant d'ajouter goutte à goutte l'acide chlorhydrique. Deux fois vingt quatre heures après l'inoculation généralement la fermentation s'établit et les gaz commencent à se dégager. Ce dégagement dure huit jours environ et l'on peut, au début, au milieu ou vers la fin de la fermentation recueillir les gaz à l'eudiomètre en vue de l'analyse. Le gaz recueilli, le volume en était déterminé, puis l'acide carbonique absorbé par un morceau de potasse caustique laissé quelques heures, à son contact. Une quantité d'oxygène équiva-

lante à environ quatre fois le volume du gaz restant était introduit dans l'eudiomètre et détoné par un courant induit, la vapeur d'eau absorbée par la potasse et le reste de l'oxygène par une solution alcaline de pyrogallol. Après chacune de ces manipulations le volume du gaz était mesuré à nouveau avec le plus grand soin.

Les cultures employées ont toutes été examinées au microscope avant l'inoculation, de même le contenu des ballons une fois la fermentation terminée. Nous avons fait de cette façon sur six ballons d'expérience plus de vingt analyses. Nous donnons ici les chiffres de six dont quatre proviennent de l'albumine et deux du jaune d'œuf.

I. — Albumine 50 gr., eau 1000 gr., 4 jours après inoculation

Gaz recueilli	volume réduit	63,26
Après absorption par la potasse	»	7,45
Après addition d'oxygène	»	21,68
Après détonation	»	10,58
Après absorption par la potasse	»	10,56

Résultats : Acide carbonique 88,22 % en volume (1)
11,70 % »
99,92

II. — Albumine 50 gr., eau 1000 gr., 6 jours après l'inoculation

Gaz recueilli	volume réduit	69,95
Après absorption par la potasse	»	12,63
Après addition d'oxygène	»	30,48
Après détonation	»	11,26
Après absorption par la potasse	»	11,31

Résultat : Acide carbonique 81,95 % en volume
hydrogène 18,24 % »
100,19

III. — Albumine 50 gr., eau 1000 gr., 7 jours après l'inoculation

Gaz recueilli	volume réduit	32,38
Après absorption par la potasse	»	5,14
Après addition d'oxygène	»	42,94
Après détonation	»	35,18
Après absorption par la potasse	»	35,30

Résultat : Acide carbonique 84,12 % en volume
hydrogène 15,19 % »
100,10

(1) C'est par abréviation que nous faisons figurer sous ce nom la totalité des gaz absorbables par la potasse, à coté de l'acide carbonique nous avons toujours constaté la présence de petites quantités d'hydrogène sulfuré et de methyl-mercaptan.

IV. — Albumine 50 gr., eau 1000 gr., derniers gaz recueillis

Gaz recueilli.	volume réduit	64,57
Après absorption par la potasse	»	3,92
Après addition d'oxygène	»	21,84
Après détonation	»	16,00
Après absorption par la potasse	»	16,04

Résultat : Acide carbonique 93,93 $^0/_0$ en volume
hydrogène 6,03 $^0/_0$ »
99,96

V. — Jaune d'œuf, 50 gr., eau 1000 gr., 5 jours après inoculation

Gaz recueilli	volume réduit	62,87
Après absorption par la potasse	»	14,44
Après addition d'oxygène	»	38,32
Après détonation	»	16,55
Après absorption par la potasse	»	16,13

Résultat : Acide carbonique 77,03 $^0/_0$ en volume
hydrogène 22,20 $^0/_0$ »
Gaz des marais. . 0,67 $^0/_0$ »
99,90

VI. — Jaune d'œuf 50 gr., eau 1000 gr., derniers gaz dégagés

Gaz recueilli.	volume réduit	30.63
Après addition de potasse	»	7,10
Après addition d'oxygène.	»	29,70
Après détonation	»	19,42
Après absorption par la potasse	»	19,45

Résultat : Acide carbonique 76,82 $^0/_0$ en volume
hydrogène 22,39 $^0/_0$ »
99,21

C'est à dessein que nous avons fait figurer les petites divergences comportant des centièmes de centimètres cubes provenant de faibles erreurs de mensuration inévitables, afin de laisser à ces chiffres toute la valeur de la réalité. Ainsi qu'on le voit par ces six analyses, la plus grande partie des gaz de la fermentation anaërobienne de l'albumine et du jaune d'œuf est de l'acide carbonique, dont la proportion varie entre 77 et 93 p. 100 en volume. Cette forte pro-

portion ne provient nullement de l'acide carbonique employé pour chasser l'air du ballon, puisqu'elle est même généralement plus forte à la fin de la fermentation qu'au début, ainsi que le prouve l'analyse n° VI. Du reste, un ballon où nous avions pour chasser l'air, remplacé l'acide carbonique par de l'hydrogène, nous donna, à partir du troisième jour du dégagement des gaz, sensiblement les mêmes proportions d'acide carbonique que d'habitude. Une moyenne prise sur quinze analyses nous accuse 85,98 p. 100 en volume d'acide carbonique pour l'albumine et 81,05 p. 100 pour le jaune d'œuf. Ce fait étant suffisamment établi nous nous sommes cru autorisé à faire abstraction de l'acide carbonique pour des analyses ultérieures.

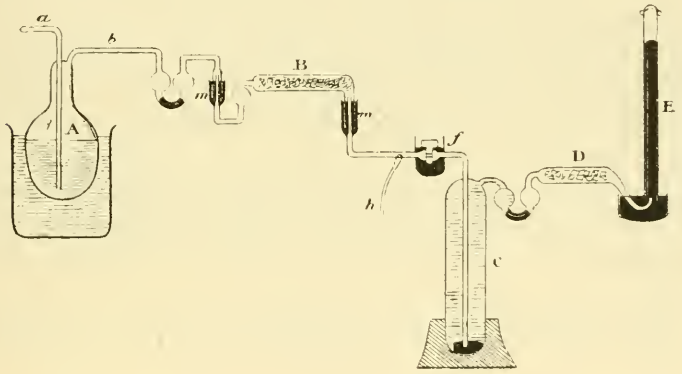


Fig. 2

A, Ballon plongeant dans le bain-marie. — *a*, Tube servant à introduire l'eau et l'albumine. — *b*, Tube par lequel s'échappent les gaz. — *m*, Manchon à mercure reliant *b* à B. — B, Tube rempli de chlorure de calcium. — *m*, Manchon à mercure reliant B à C. — *f*, Robinet plongeant dans le mercure. — C, Flacon rempli de solution de potasse caustique, au fond une couche de mercure destinée à éviter la pression négative qui résulterait du contact constant de l'acide carbonique avec la potasse. — *h*, Tube pour l'introduction de l'hydrogène dans la seconde moitié de l'appareil. — D, Second tube à chlorure de calcium terminé par un tuyau recourbé amenant les gaz dans l'eudiomètre. — E, Eudiomètre plongeant dans une cuve à mercure.

Le tube *b* ainsi que le tube de sortie du flacon C sont munis d'interrupteurs à mercure.

Nous avons, pour simplifier un peu les manipulations, absorbé l'acide carbonique par la potasse avant l'entrée des gaz dans l'eudiomètre et avons imaginé dans ce but l'appareil représenté par la fig. 2. A un ballon à deux tubes (A),

semblable à celui de la fig 1, fait suite un tube B renfermant du chlorure de calcium en morceaux, chargé d'absorber la vapeur d'eau, dont est saturé le gaz qui le traverse et qui passe ensuite dans le flacon C rempli d'une solution concentrée de potasse caustique pour traverser enfin un second tube à chlorure de calcium D avant d'entrer dans l'eudiomètre E. Le tube de sortie *b* du ballon A est relié au tube B par un double manchon à mercure (*m*) ainsi qu'en (m^1) le tube B au flacon C. Le flacon C est relié au tube D par un tuyau soudé. Tout l'appareil est en verre. L'appareil étant monté, le robinet (*f*) étant fermé, l'air est chassé du flacon C par un courant d'hydrogène sec que l'on fait pénétrer par le tuyau (*h*), puis l'air du ballon A est déplacé par un courant d'acide carbonique pénétrant par le tube *a*, traversant la première partie de l'appareil pour venir sortir par le même tuyau (*h*), débarrassé du tube qui le reliait à l'appareil de Marche, après quoi les tubes *a* et *h* sont fermés à la flamme. La solution de potasse du flacon C exactement titrée peut ainsi servir à déterminer, si on le juge à propos, la totalité de l'acide carbonique dégagé pendant la fermentation. Quant au gaz qui pénètre dans l'eudiomètre, il est absolument débarrassé de vapeur d'eau et d'acide carbonique.

Nous donnons ici une analyse faite avec cet appareil :

VII. — Albumine 50 gr., eau 1000 gr., dernier gaz dégagé

Gaz recueilli	volume réduit	6,95
Après addition d'oxygène.	»	29,63
Après détonation	»	19,34
Après absorption par la potasse	»	19,34

Résultat : hydrogène 98,7 $^0/_0$ en volume
azote . . . 1,3 $^0/_0$ »

Si l'on considère d'après ce que nous avons dit plus haut, que les gaz non absorbables par la potasse ne constituent que le 16 p. 100 des gaz dégagés, ce chiffre de 1,3 p. 100 équivaudrait à 0,21 p. 100 d'azote pour la totalité du gaz dégagé, quantité certainement négligeable et provenant, selon toute probabilité, des petites quantités d'air dont il

est presque impossible de débarrasser l'appareil. D'après ces expériences nous croyons pouvoir tirer les conclusions suivantes :

1° la fermentation de l'albumine, déterminée par le virus du charbon symptomatique, ne produit pas d'azote libre ;

2° la plus grande partie du gaz dégagé est de l'acide carbonique ;

3° le gaz non absorbable par la potasse est de l'hydrogène, l'acide carbonique et l'hydrogène se rencontrent dans les proportions moyennes de 84 et 16 p. 100 pour l'albumine, de 81 et 19 p. 100 pour le jaune d'œuf ;

4° à côté de ces gaz se constatent toujours de faibles quantités d'hydrogène sulfuré et de methyl-mercaptan.

5° Quand au gaz du marais, nous n'avons constaté sa présence qu'une seule fois, et dans des proportions minimes, 0,67 p. 100, dans la fermentation du jaune d'œuf (voir analyse V). Nous croyons pouvoir affirmer que la fermentation anaërobienne n'en produit pas.

SUR UN NOUVEAU PROCÉDÉ D'ISOLEMENT DU BACILLE TYPHIQUE DANS L'EAU (1)

PAR M. H. VINCENT

AIDE-MAJOR ATTACHÉ AU LABORATOIRE DE BACTÉRIOLOGIE DU VAL-DE-GRACE

Le bacille pathogène de la fièvre typhoïde a été bien des fois recherché dans l'eau et, fort souvent, les recherches les plus persévérantes n'ont pu parvenir à y déceler sa présence alors qu'on était autorisé, à bon droit, à l'y soupçonner.

Ces insuccès s'expliquent, soit parce que le bacille d'Eberth existe dans l'eau à un état de dilution telle que les ensemencements ne portent pas sur les portions qui le renferment; soit parce que nous ne possédons peut-être pas de méthode véritablement parfaite pour isoler cet organisme.

La méthode des plaques phéniquées, quoique très bonne, est souvent mise en défaut par ce fait qu'on ne peut ensemencer qu'une très petite quantité d'eau — une à deux gouttes — pour chaque cloche; parce que les bactéries banales encombrent souvent les plaques; enfin parce que même alors que le bacille typhique s'y développe, il n'y présente pas toujours sur gélatine les caractères classiques que MM. Chantemesse et Widal lui ont assignés dans leur si remarquable travail.

Des recherches actuellement en cours, il résulterait en effet que lorsque le bacille d'Eberth a souffert par l'abandon dans l'eau pendant quelques jours, par exemple, ou dans d'autres conditions que nous spécifierons dans un travail ultérieur, ses cultures sur les divers milieux, et en

(1) *Extrait des comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, séance du 1er février 1890.

particulier sur gélatine, sont souvent tout à fait anormales et peuvent par conséquent tromper un observateur même attentif.

La méthode suivante a l'avantage de permettre d'opérer sur d'assez grandes quantités de l'eau à analyser, de réussir aussi bien sur le bacille typhique vieux que récent et de donner un résultat rapide.

Elle est basée à la fois sur la grande résistance que possède le bacille typhique vis-à-vis de l'acide phénique (Chantemesse et Widal) et sur la propriété que possède le même organisme de se multiplier à une haute température. M. Rodet a conseillé, dans une communication faite au mois de juin de l'année dernière à la société de biologie, d'ensemencer le liquide suspect dans du bouillon et de porter à 44°,5; si ce milieu contient le bacille typhique, il s'y développera.

Ce procédé est loin de donner des résultats.

L'ensemencement *successif* et *précoce* dans du bouillon phéniqué porté à 42 degrés a, au contraire, toujours réussi.

Voici en quoi consiste cette méthode :

On prépare des tubes de bouillon dans lesquels on verse cinq gouttes (1) d'acide phénique à 5 p. 100 pour 10 centimètres cubes de bouillon, ou bien quatre gouttes pour 8 centimètres cubes, etc., soit la proportion d'une goutte d'acide phénique pour 2 centimètres cubes de bouillon.

Dans six de ces tubes, on verse de cinq, quinze gouttes de l'eau à analyser; on recouvre d'un capuchon de caoutchouc pour éviter l'évaporation, et on porte immédiatement à l'étuve ou au bain-marie à 42 degrés.

Le plus souvent, et si l'eau est pure, les bouillons restent indéfiniment clairs, malgré la grande quantité d'eau ensemencée. Dans le cas contraire, dès que le bouillon *commence* à louchir, ce qui se produit en moyenne de huit à douze heures après, on ensemence une *ose* de chacun des tubes dans six nouveaux tubes de bouillon phéniqué qu'on porte également à 42 degrés. Assez souvent, on a le bacille typhique pur dès le premier ou le deuxième passage;

(1) Se servir d'une pipette jaugeant 40 gouttes au centimètre cube.

c'est pourquoi il est utile d'ensemencer une *ose* des tubes de première et de deuxième culture dans du bouillon *simple* et sur agar, où l'organisme se présente alors avec ses caractères normaux.

D'autres fois, quelques saprophytes (*Bac. subtilis*, B. de la pomme de terre, surtout) résistent, et il est alors nécessaire de faire un troisième et même un quatrième passage dans le bouillon phéniqué avant d'ensemencer dans le bouillon simple.

Dans les cas simples, par exemple, pour extraire le bacille d'Eberth d'un viscère de typhoïdique, un seul passage dans le bouillon phéniqué suffit et permet d'avoir l'organisme très pur et très mobile au bout de vingt-quatre heures. La méthode des plaques de gélatine demanderait au moins quatre ou cinq jours ; d'où les avantages de notre procédé en clinique.

Il est important de noter que, examiné dans le bouillon phéniqué, le bacille typhique est à peu près immobile et a souvent la forme de diplo-bacilles très courts ou de diplocoques ; on ne se laissera pas tromper par cet aspect, car ensemencé dans du bouillon normal, il y récupère tous ses caractères habituels.

Ce procédé, essayé un grand nombre de fois et dans les conditions qui pouvaient augmenter le plus les difficultés de la recherche, a permis d'isoler parfois très facilement le bacille d'Eberth, soit de la rate de typhiques, soit d'eaux de provenances diverses dans lesquelles on avait ajouté intentionnellement une grande quantité de saprophytes les plus résistants.

Enfin appliqué à l'analyse d'un échantillon de l'eau de Givet, où vient de sévir une épidémie de fièvre typhoïde, il nous a donné récemment le bacille typhique. Les essais simultanés faits à l'aide des cultures sur plaques avaient été sans résultats.

REVUES ET ANALYSES[1]

Dr Pieffer — **Sur un nouveau bacille à capsule** (*Zeitschrift für Hygiene*, VI, 1. p. 145).

L'auteur décrit un nouveau bacille pathogène trouvé à l'autopsie d'un cobaye mort spontanément. La cavité abdominale de celui-ci contenait un exsudat semblable à du pus et visqueux, pouvant s'étirer en longs filaments. Cet exsudat était formé par une culture pure du bacille en question, que l'on retrouva aussi en grande quantité dans le sang. Ce bacille est arrondi à ses bouts, immobile, 2 à 3 fois aussi long que large, et forme souvent des chaînettes de 2 et 3 individus. Il existe aussi des filaments plus longs, dans lesquels on ne remarque pas de division en articles. Les bacilles sont entourés, sans exception, d'une belle capsule ovale dont le diamètre peut être de 3 à 5 fois plus grand que celui des bacilles. En colorant les préparations à chaud dans la fuchsine ou le violet de gentiane, et en décolorant ensuite prudemment avec l'acide acétique dilué, on obtient des capsules colorées en clair, tandis que les bacilles restent foncés. La méthode de Gram les décolore, M. Pfeiffer a réussi facilement à les cultiver sur gélose, gélatine, pommes de terre, et dans le bouillon. Sur gélose, ils forment, à 37°, en 24 heures, des gazons blancs visqueux. Inoculé dans la gélatine par piqûre, ce bacille donne les cultures en clou du bacille de Friedlaender (pneumonie). La gélatine n'est pas liquéfiée. Sur plaques, les colonies superficielles sont d'un blanc de porcelaine, légèrement bombées, et atteignent la grosseur d'une lentille. Sur la pomme de terre, les colonies sont jaunâtres. Cet organisme vit aussi à l'abri de l'air et est très pathogène pour les souris (blanches et grises). Celles-ci meurent en 24 heures ; les vaisseaux sont gonflés de même que la rate. Le cœur est aussi fortement distendu. On trouve ces bacilles dans tout le corps et dans le sang, auquel

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

les capsules gélatineuses donnent un caractère visqueux. On peut alors l'étirer avec un fil de platine. Les cobayes et les pigeons sont également sensibles à l'action de ce bacille; l'inoculation ne réussit toutefois, chez eux, que quand elle est faite dans le péritoine (une goutte pour les cobayes, un peu plus pour les pigeons). Les lapins ne meurent qu'à la suite de l'injection d'un cmc. dans la veine de l'oreille. De plus petites quantités les rendent malades, mais ne les tuent pas. Les bacilles s'y retrouvent aussi en grand nombre dans le sang et dans les organes. Un fait curieux est la décomposition rapide des animaux tués par ce bacille. Seize à vingt heures après la mort, les organes sont friables et se déchirent facilement, comme s'ils avaient été cuits. Cette décomposition s'accompagne d'une odeur désagréable, mais très différente de celle de la putréfaction.

Le microorganisme ressemblant le plus à ce « *Bacillus capsulatus* » serait celui de Friedlaender. Il s'en distingue cependant par la grandeur des capsules et par son action pathogène à l'égard des souris, qui résistent à celui de Friedlander. De même, les cobayes inoculés avec ce dernier dans le péritoine ne meurent que dans la moitié des cas, tandis qu'ils sont toujours tués par ce nouveau bacille. Le *Pseudo-bacillus pneumoniæ* de Passet, qui n'est qu'aérobie, peut également en être différencié avec facilité. La propriété, du reste, de rendre le sang visqueux semble n'appartenir qu'à lui.

E. F.

E. Klein. — **Sur une maladie épidémique des poules causée par un bacille, le *Bacillus gallinarum* (*Centralblatt für Bakt.*, V, p. 689).**

L'auteur décrit une maladie épidémique ayant sévi sur des poules, dont 400 sur 500 que contenait un poulailler avaient succombé dans l'espace d'un an. La maladie avait d'abord été prise pour le choléra des poules, mais un examen soigneux fait par le Dr Klein montra qu'elle en différait. 24 à 36 heures avant la mort, les animaux ont encore l'air d'être en parfaite santé ; la maladie débute alors par une diarrhée d'une matière jaunâtre, fluide et se termine par la mort, généralement le lendemain. Pendant ce temps, les animaux sont remarquablement tranquilles, mais la somnolence du choléra des poules fait défaut. A l'autopsie, on trouve le sang du cœur coagulé ; le foie est agrandi, mou et friable ; la rate a au moins le double de son volume habituel, quelquefois plus ; elle est aussi molle et pauvre en sang. La séreuse intestinale est hyperémiée. On trouve dans le sang du cœur des bacilles immobiles, arrondis à leurs bouts, et à peu près deux fois plus longs que ceux

du choléra des poules ; on en voit toutefois qui ne sont pas plus longs que ces derniers. Ils sont aussi un peu plus larges. Leur nombre, dans le sang, est beaucoup moins considérable que celui des bacilles que l'on trouve dans le sang des animaux morts du choléra des poules, et il faut souvent parcourir plusieurs champs du microscope avant d'en trouver. Dans la rate, ils sont beaucoup plus nombreux. On les trouve également en grand nombre dans les matières diarrhéiques et dans le mucus du cæcum.

Sur les plaques de gélatine tenues à 20°, les premières colonies sont visibles à la loupe au bout de 24 heures, à l'œil nu seulement à la fin du deuxième jour. Elles se présentent sous la forme de petits points superficiels grisâtres. En grandissant, elles deviennent des disques blanchâtres, plats et homogènes, dont les contours, examinés à la loupe, sont un peu irréguliers. Après deux semaines, elles ont atteint leur maximum de croissance et ont alors un diamètre de 3^{mm}. Dans les cultures par piqûre, elles forment à la surface de la gélatine un petit disque mince et grisâtre qui ne grandit que très lentement. Le long de la piqûre, on voit une ligne blanchâtre, composée de petits points, mais le développement dans l'intérieur de la gélatine est très restreint. Ce bacille se développe très bien dans le bouillon à 36°, qu'il trouble uniformément après 24 heures. Au bout d'une semaine, il se forme un dépôt et le bouillon se clarifie. Inoculé par strie sur l'agar, il forme une traînée grise et mince, à bords irréguliers ; celle-ci s'étend peu à peu, et finit par recouvrir toute la surface. Il se refuse, par contre, à croître sur la pomme de terre. L'inoculation du sang ou des bouillons de culture tue les poules, mais est inoffensive pour les lapins et les pigeons (un seul lapin, sur 6 inoculés, mourut et son sang ne contenait que fort peu de bacilles). Ceci prouve la diversité de cette affection du choléra des poules, toujours fatal pour les lapins et les pigeons. En outre, tandis qu'avec le choléra des poules la mort survient 24-36 heures après l'inoculation, les animaux inoculés avec le *Bacillus gallinarum* restent bien portants pendant 5 jours pleins. La diarrhée apparaît alors et les animaux meurent le lendemain, au plus tard le 8e ou 9e jour. Les cadavres présentent les altérations décrites plus haut. On tue également les poules en leur faisant ingérer les déjections des animaux malades, ce qui explique facilement la contagion et le caractère épidémique de la maladie dans les poulaillers. E. F.

Dr E. v. Esmarch. — De l'action désinfectante de la vapeur surchauffée, employée sans pression (*Zeitschrift für Hygiene*, Bd IV, 2, p. 198).

Un des moyens les plus puissants de désinfection consiste, on le

sait, dans l'emploi de la vapeur d'eau, avec ou sans pression. Dans ce dernier cas, la température ne dépasse pas 100°, il est vrai ; cependant, on en obtient de bons résultats dans la pratique. On reproche, toutefois, à ce procédé de mouiller fortement les objets pendant l'opération, ce qui n'est pas sans inconvénient, quand il s'agit d'objets volumineux.

L'emploi de la vapeur d'eau surchauffée sous pression en revanche est exempte de ce désavantage, et constitue, sans contredit, le procédé le plus sûr. D'autre part, il exige des appareils spéciaux, d'une solidité à toute épreuve, ainsi qu'un personnel exercé.

On a récemment cherché à éviter ces différents inconvénients en utilisant une vapeur surchauffée, mais sans pression. Pour cela, il suffit de la faire passer par des conduites métalliques fortement chauffées avant de la conduire dans l'appareil de désinfection. On obtient ainsi, dans ce dernier, suivant que l'on chauffe plus ou moins fortement les conduites de métal, une température variant de 105°-140° sans la moindre tension, une ouverture étant ménagée dans l'appareil pour laisser la vapeur s'échapper. Il était, toutefois, intéressant de rechercher si la vapeur ainsi traitée ne perd pas de son pouvoir désinfectant, car il clair que chaque degré de chaleur qu'elle gagne, à partir de 100°, sans qu'elle soit sous pression, lui enlève de son humidité et rapproche son action de celle de la chaleur sèche. Or, on sait qu'il faut avec celle-ci recourir à des températures de 150°-200°, pour tuer sûrement tous les germes. Dans son mémoire, M, le Dr Esmarch étudie cette question, et il arrive, en effet, au résultat qu'à la température de 110° et 120° la vapeur surchauffée a un pouvoir désinfectant beaucoup plus faible que la vapeur d'eau à 100°. Ce n'est qu'à partir de 150 à 200° qu'elle récupère son pouvoir germicide. Voici comment ont été faites les expériences : Un matras, d'une contenance de 3 litres, rempli d'eau et chauffé par 3 becs de Bunsen, servait à produire la vapeur qu'un tube coudé de verre faisait passer dans un tuyau à gaz, long de 40 centimètres et d'un diamètre intérieur d'un pouce et demi ; ce tuyau, chauffé à volonté par une série de becs de Bunsen, s'adaptait à un tube de verre muni à son extrémité d'un bouchon de liège traversé par un thermomètre et par un mince tuyau de verre recourbé en bas. Ce dernier laissait échapper la vapeur, tout en étant assez étroit pour ne pas laisser entrer d'air. La boule du thermomètre pénètrait de 10 à 15 centimètres dans le tube de verre, et portait un petit plateau de fil de platine, destiné à recevoir les échantillons de bactéries soumis à la désinfection.

M. le Dr Esmarch pouvait ainsi obtenir en peu de temps une vapeur chauffée à n'importe quelle température au-dessus de 100°. Comme objet de désinfection, il se servit de fils de soie imprégnés de spores charbonneuses et de terre de jardin. A la fin de l'expérience, les spores charbonneuses, étaient ensemencées dans du bouillon,

la terre servait à faire des plaques d'après la méthode d'Esmarch. D'après ces expériences, les spores charbonneuses sont tuées en 5 à 10 minutes par la vapeur d'eau à 100°, tandis que celles exposées pendant 30 minutes à la vapeur de 123°, et même, dans une expérience, celles exposées pendant 10 minutes à la vapeur de 150°, peuvent vivre encore. Elles ne résistent pas, par contre, 15 minutes à la vapeur de 150° ni même 10 minutes à celle de 200°. La terre n'était pas désinfectée par un séjour de 3 heures dans la vapeur à 140°. La vapeur à 100°, quand son action est prolongée suffisamment, a une action désinfectante plus marquée ; ainsi, au bout de 85 minutes, la terre ne donna plus naissance qu'à une seule colonie. Il est à noter encore que, si l'on mouille préalablement les objets, la désinfection est plus puissante. Ainsi, les spores charbonneuses mouillées ne résistèrent pas 5 minutes à la vapeur chauffée à 120°.

La vapeur surchauffée, mais employée sans pression, est donc sujette aux mêmes inconvénients que la chaleur sèche, c'est-à-dire qu'elle ne désinfecte qu'à une température que ne peuvent supporter sans être endommagés, les objets que l'on veut purger de germes.

E. F.

A. d'Espine et E. de Marignac. — **Recherches expérimentales sur le bacille diphtéritique** (*Revue médicale de la Suisse Romande, 1890, n° 1*).

Dans leur mémoire les auteurs apportent un nouvel appui à la spécificité du bacille diphtéritique de Loeffler. Après avoir fait l'historique des travaux relatifs à ce bacille ils nous exposent le résultat de leurs propres recherches continuées depuis plusieurs années. Ce qu'ils nous disent de la morphologie, de la biologie et de l'action pathogène de ce bacille, confirme ce que nous ont appris les belles recherches de Loeffler, Roux et Yersin, Zarnicko, etc. Notons que parmi les phénomènes morbides, ils avaient en 1887 déjà constaté chez leurs animaux d'expérience des symptômes de paralysie, sans qu'ils semblent toutefois leur avoir à ce moment, alors qu'ils étaient encore peu étudiés, accordé toute l'importance que leur ont donné plus tard les recherches de MM. Roux et Yersin. Ils ont, également, remarqué chez un chat des symptômes d'anorexie et d'apathie, qui, on le sait, sont fréquents dans la diphtérie humaine.

E. F.

MAX HOLZ. — **Expériences sur la recherche du bacille typhique** (*Zeitschrift fur Hygiene*, VIII, 1, p. 143).

Tous ceux qui se sont occupés du bacille typhique savent combien il est difficile de distinguer avec certitude sur les plaques de gélatine ses colonies de celles de plusieurs microorganismes lui ressemblant beaucoup. Aussi est-on toujours à la recherche d'un moyen qui permette de le différencier plus facilement. Nous avons déjà parlé des efforts tentés par M. Kitasato dans cette voie. Comme ce dernier M. Holz n'a pas pu se convaincre de l'utilité du procédé préconisé par MM. Chantemesse et Widal qui, on le sait, emploient une gélatine phéniquée à 0, 25 p. 100. M. Kitasato avait trouvé que le bac. typhique ne croît bien que quand la dose d'acide phénique ne dépasse pas 0,2 p. 100. D'après M. Holz une dose supérieure à 0.1 p. 100 d'acide phénique entraverait déjà sa croissance. Ces contradictions peuvent s'expliquer par des différences dans le degré de vitalité des cultures employées ; il n'en reste pas moins vrai que ce procédé ne donne pas une certitude absolue. M. Holz ne se loue guère d'avantage de la méthode de M. Thoinot qui ajoute l'acide phénique à l'eau (20 gouttes d'acide pour 500 grammes d'eau) dont il fait des plaques. Il reconnaît cependant que dans certains cas ce procédé lui a paru diminuer le nombre des colonies vulgaires.

La méthode de MM. Grancher et Deschamps (emploi de milieux nutritifs colorés) donne des résultats qui ne sont pas sans valeur, mais les réactions chimiques différentes que produisent dans ces milieux les bacilles typhiques et les microorganismes leur ressemblant dépendent d'une foule de circonstances (composition des bouillons, de la matière colorante, air, etc.), en sorte qu'il est difficile de prédire quels changements le bac. typhique y produira. Il faut donc avec cette méthode faire toujours simultanément des cultures de contrôle avec une culture typhique authentique.

Par contre, l'auteur a constaté que dans une gélatine nutritive préparée avec du suc de pommes de terre (cette gélatine est assez acide) le bacille typhique croît d'une façon très caractéristique, tandis qu'un grand nombre de bactéries vulgaires y croissent très mal. Les colonies liquéfiantes, en particulier, ne s'y développent que plus tard, ce qui permet de prolonger l'observation des plaques pendant 3-4 jours de plus que d'habitude. On peut aussi y ajouter 0,05 p. 100 d'acide phénique, ce qui entrave la pullulation des moisissures et l'apparition des colonies liquéfiantes, tandis que cela ne retarde celle des colonies typhiques que d'un jour. On peut également avec un bon résultat combiner l'emploi de cette gélatine spéciale avec le procédé Thoinot, en laissant l'eau à analyser 3 heures en contact avec l'acide phénique (100 centimètres cubes d'eau et 0,25 acide phénique). Sur les plaques très largement ensemencées (plaques originales) les colonies

typhiques ont le même aspect que sur la gélatine ordinaire. Dans les plaques de première et deuxième dilution les colonies deviennent visibles en 3 jours (à 15-17° ; à ce moment, vues sur un fond obscur, elles se présentent comme de petits points jaunâtres. Les colonies situées à la surface sont claires et transparentes et ont des contours irréguliers. Vues au microscope, ces dernières sont très réfringentes, plissées, incolores, et jamais jaunâtres au centre. Les colonies intérieures sont chagrinées, rarement parfaitement rondes, plutôt ovales, et jamais jaunes. Le quatrième jour elles prennent une teinte jaune-brun qui devient toujours plus foncée, jusqu'au brun-verdâtre, sans toutefois que leur dessin cesse d'être visible ; quelquefois le centre présente alors une tache irrégulière. Les colonies de la surface, au contraire, restent toujours transparentes, un peu jaunâtres au centre après 5-7 jours. Jamais elles ne dépassent la grandeur de 1-5 millimètres. A une température plus élevée, le tableau reste le même, sauf que le développement et l'apparition de la coloration est plus rapide. Il sera donc toujours utile de faire des plaques de contrôle avec une culture authentique. Le trait distinctif de ces cultures sur la gélatine au suc de pommes de terre serait donc la transparence des colonies. L'auteur a, il est vrai, rencontré deux fois des colonies analogues, mais elles se distinguent par leurs plus grandes dimensions. En 1 jour elles atteignent la grandeur des colonies typhiques de 3 à 4 jours et sont jaunâtres dès le début.

A l'aide de ce procédé M. Holz a réussi à constater que les bacilles typhiques ensemencés dans différents échantillons d'eau tenue à 12°, peuvent, malgré la concurrence vitale des bactéries vulgaires qui s'y trouvent, rester vivantes pendant 14 et 18 jours.

E. F.

Dr Hermann Sonntag. — **De l'importance de l'ozone comme désinfectant** (*Zeitschrift für Hygiene*, VIII, p. 93).

Le but du mémoire de M. Sonntag est d'établir expérimentalement, en s'aidant des procédés modernes de la bactériologie, quel est le pouvoir microbicide de l'ozone. On sait, en effet, que ce gaz a souvent été considéré comme un désinfectant puissant, sans toutefois que son action ait jamais été soumise à des épreuves offrant toutes les garanties que l'on est en droit d'exiger, quand il s'agit de déterminer la puissance d'action d'un antiseptique sur les germes infectieux. Nous ne pouvons entrer ici dans de longs détails sur la littérature assez riche déjà concernant cet objet et nous ne pouvons non plus, sans être entraînés trop loin, exposer d'une façon un peu complète, la technique nécessairement compliquée que l'auteur a suivie dans ces expériences délicates. Aussi nous

bornerons nous à enregistrer sommairement les résultats acquis par ses expériences.

Dans une première série de recherches l'auteur put constater qu'une asmosphère contenant 1 milligramme d'ozone par litre (= 0,05 vol. p. 100) est incapable, même dans les conditions les plus favorables, de tuer les spores ou les formes végétatives du charbon.

Dans une seconde série d'expériences une atmosphère sèche d'oxygène, contenant 4.1 milligrammes d'ozone par litre (= 0,19 vol. p. 100) agissant pendant 24 heures n'a pas encore exercé une action incontestable sur la vivacité et la virulence des bactéries mises en expérience (*charbon*, *Bac. pneumoniae* Friedländer *Staph. pyog, aueus et albus*, *Bac. murisepticus*, *Bac. crassus sputigenus*, terre de jardin).

D'une autre série de recherches il résulte que même dans une atmosphère humide (l'humidité augmente l'action de l'ozone), 3 milligrammes d'ozone par litre (= 0,14 vol. p. 100) sont sans action sur les bactéries.

Ce n'est qu'à partir d'une teneur initiale en ozone de 13,53 milligrammes par litre (soit 5.83 si l'on déduit l'ozone fixé par les matières organiques constituant le véhicule des bactéries) qu'une action microbicide de l'ozone commence à se montrer, sans toutefois qu'elle se produise avec certitude dans chaque cas. Or un tel degré de concentration ne peut être obtenu que par des appareils spéciaux et serait irréalisable dans la pratique. Il y aurait donc peu de chance de voir l'ozone prendre une place prépondérante parmi les désinfectants. Dans quelques expériences faites avec une eau ozonisée (eau ozonisée de Lender) l'auteur put constater une certaine action ; ainsi au bout de 24 heures de contact les spores charbonneuses étaient tuées ; après une heure seulement elles étaient encore vivantes. Cependant la pureté problématique du produit n'a pas permis à M. Sonntag d'affirmer que cette action était uniquement le résultat de l'ozone contenu dans l'eau.

E. F.

Dr. med. Beselin. — **Du désinfectol et de son action désinfectante sur les matières fécales** (*Centralbl. fur Bakteriol. u. Parasitenkunde*, VII. p. 364).

L'auteur a examiné le pouvoir désinfectant, mais sur les matières fécales typhiques seulement, d'un nouvel antiseptique introduit par le Dr Bruno Loewenstern à Rostock, dans le commerce sous le nom de « désinfectol ». Celui-ci, un parent de la créoline, est un produit noirâtre, de consistance sirupeuse, et d'une odeur analogue à celle

de la créoline. Il est soluble dans l'eau ; dans de l'eau très froide il forme une émulsion. Les composants essentiels sont les savons résineux et les combinaisons sodiques des phénols et des hydrocarbures. Dans ses expériences, M. Beselin mélangeait à parties égales les matières fécales semi-liquides avec des émulsions de desinfectol de concentrations variées. Il en résulte que le contact de la solution de 2 p. 100 prolongé pendant 18 heures suffit pour tuer les bacilles typhiques, mais non les autres microorganismes. Pour opérer une désinfection complète il faut employer pendant le même temps la solution à 5 p. 100 ou mieux encore celle à 7, 5 p. 100. La solution à 10 p. 100 désinfecte en 18 heures le double de son volume de matières fécales. Avec la solution à 10 p. 100, en outre, mélangée à parties égales, la désinfection est complète en 1/4 d'heure, tandis qu'avec celle à 5 p. 100 elle n'est pas encore obtenue après 10 heures. Comparant ces résultats avec ceux que M. le professeur Uffelmann avait précédemment obtenus en faisant agir sur des matières fécales semi-liquides différents antiseptiques, M. Beselin conclut que l'émulsion de désinfectol à 5 p. 100 vaut la créoline à 12,5 p. 100, l'acide chlorhydrique à 33 p. 100, l'acide phénique à 5 p. 100 et le sublimé (avec ou sans adjonction d'acide chlorhydrique) à 2 p. 1000. La solution de désinfectol à 10 p. 100 les surpasserait tous et équivaudrait à l'acide sulfurique à 50 p. 100. L'auteur ajoute que le professeur Gies et le Dr Rothe tous deux à Rostock se sont servis avec succès dans leur pratique d'émulsions de désinfectol à 1/2 et 1 p. 100.

E. F.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel-de-Ville), *Février* 1890,

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
			TEMPÉRAT.	PLUIE —	VENT			
	BACTÉRIES	MOISISSURES	moyenne	Hauteur en millimèt.	Direction moyenne	Force moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 6, du 2 février au 8 février 1890 . .	5.670	2.160	0° 8	0mm,2	NE	11km	124	199
N° 7, du 9 » au 15 » » . .	6.700	2.830	2 ,9	0 ,3	NE	14	141	203
N° 8, du 16 » au 22 » » . .	2.800	1.000	5 ,8	3 .8	NE	13	135	216
N° 9, du 23 » au 1er Mars » . .	5.830	500	1 ,7	0 .0	NE	20	141	258
»	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	5.250	1.620	2°,8	4mm,3	NE	14,5	541	876
ANNÉE MOYENNE	4.520	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques*, sont comprises: les fièvres éruptives, la fièvres typhoïde et l'atrepsie (choléra enfantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aigues des poumons (Bronchite aigue, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts

Février 1890. Bactéries = » Moisissures = » Température = »

Analyses diverses (. . . . .)

Février 1890. Bactéries = » Moisissures = » Température = »

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Février* 1890

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Février 1890	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge	560	705	»	Canalis. = 150 bactéries
» de la Dhuis à Ménilmontant	925	1.890	»	Canalis = 2.475 »
» réservoir de l'église Saint-Malo (Dinan)	1.220	»	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur	12.000	28.650	3°,5	»
» de la Seine à Ivry	72 000	27.340	3°,7	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	80 500	31.060	»	Haut. de la Seine 1m,28
» de la Seine au pont de l'Alma	180.000	77.525	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	73.500	36.190	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Eau du puits de la place Duclos (Dinan)	290	»	»	»
» du puits Bollast (Alfort)	3.900	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Eau du drain de Cassepot (Dinan)	730	»	»	»
» du drain du Chêne-Pichard (Dinan)	1.300	»	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	15.000.000	13.315.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est	130.000.000	19.440.000	»	»
» » traitée à Bondy	»	74.250	»	»

BIBLIOGRAPHIE

L. Villain et Bascou. — **Manul de l'inspecteur des viandes**, un vol. gr. in-8, 632 pages, 2e édition, revue, corrigée et augmentée, avec 67 fig. noires et en couleurs dans le texte et 13 planches en chromotypie. Paris, 1890, G. Carré, éditeur.

Le sort des livres bons et utiles est de s'épuiser rapidement ; la première édition du *Manuel de l'inspecteur des viandes* étant devenue aujourd'hui introuvable il était urgent de l'éditer à nouveau, ce qui est actuellement fait et bien fait par la maison G. Carré.

Le *Manuel de l'inspecteur des viandes* de MM. Villain et Bascou, auquel a collaboré l'élite des vétérinaires inspecteurs des viandes de la Ville de Paris, n'est pas une œuvre doctrinale ; la théorie ne saurait évidemment régner dans un ouvrage dont le but principal est d'éclairer et de légitimer la saisie de produits alimentaires, non pas falsifiés comme le poivre, le chocolat, le vin, etc., mais altérés soit spontanément, soit par des principes morbides ; on comprend dès lors toute l'importance du *Manuel* de MM. Villain et Bascou et la façon toute spéciale dont il devait être conçu et écrit : à la sûreté de l'œil, à la grande pratique de l'inspecteur, la science doit venir en aide pour lever les doutes, ou expliquer les faits qui ne relèvent pas de l'examen macroscopique ou des propriétés organoleptiques des substances examinées. Les viandes charbonneuses par exemple sont très difficiles à distinguer à la vue des viandes saines, le secours du microscope devient indispensable pour en assurer le diagnostic ; le *Manuel de l'inspecteur des viandes* devait donc contenir non pas seulement quelques notions sur les microbes pathogènes qui désolent nos écuries et nos basses-cours, mais une étude étendue et complète de ces agents nocifs et redoutables ; nous affirmons que cette étude a été faite d'une manière remarquable.

La tuberculose animale, l'examen des viandes charbonneuses, septicémiques, à odeur de beurre rance, la description des microbes qui produisent le rouget du porc, la pneumo-entérite infectieuse et la pneumonie infectieuse font l'objet du chapitre I du liv. VII. Le chapitre II du même livre est consacré aux infections parasitaires qui s'obs-

servent si fréquemment dans les viandes livrées à la consommation et qui ont pour agents les trichines, les cysticerques, les échinocoques, les psorospermies, etc. Le chapitre III relate les intoxications par les maladies virulentes, telles que la rage, la péripneumonie, la peste bovine, la fièvre aphteuse, etc. Les chapitres suivants sont plusspécialement consacrés aux maladies diverses qui altèrent les tissus et qui n'ont pas toutes une origine microbienne ou cryptogamique. Ce livre d'environ 100 pages est dû en entier à la plume de M. Villain, le savant directeur du service d'inspection, qui a su en rendre la lecture pleine d'intérêt et éminement instructive.

Le livre XII du *Manuel*, plus court, il est vrai, mais non moins intéressant à parcourir est de M. Bascou, il traite de la technique microscopique que doit connaître l'inspecteur appelé à rechercher les causes de l'altération des viandes suspectées ; ce livre contient un précis très condensé d'histologie normale, la description des procédés de coloration, d'examen, etc. — Il est précieux par cela même qu'il est élagué de tous les détails inutiles qu'on accumule ordinairement dans les traités pour créer des pages et des chapitres et arriver a parfaire un volume de dimensions respectables, ici au contraire, le mot d'ordre est d'être bref et précis, clair et concis ; nous estimons qu'aucun des collaborateurs de M. Villain n'a un instant perdu de vue ce but difficile à atteindre et que tous ont avec un égal savoir remplir leur tâche.

Aussi le *Manuel de l'inspecteur des viandes* est-il une œuvre parfaitement cohérente, qui fait honneur non seulement à ses auteurs, mais à la Ville de Paris dont ils sont les fonctionnaires et les auxiliaires précieux. S'il est en effet des agents sanitaires dont le rôle est important, je demande vraiment si l'on ne doit pas aller les chercher dans ce groupe de vétérinaires instruits et dévoués, auxquels est dévolue la mission délicate et difficile de découvrir et d'arrêter au passage les morceaux suspects perdus et pour ainsi dire noyés dans les masses de viandes servies journellement à plus de 2 millions d'habitants. A quand, nous ne cesserons de le demander, renvoie-t-on le vote des crédits nécessaires à l'édification d'un laboratoire digne de ces savants praticiens ? Le *Manuel* de MM. Villain et Bascou démontre surabondamment que l'examen microscopique doit occuper une place importante dans leurs investigations, cet examen ne peut se faire ni aux portes ni aux poternes de la ville à 3 ou heures du matin, la création d'un laboratoire central bien outillé devient indispensable. La municipalité de Paris si soucieuse de toutes les questions qui touchent à l'hygiène ne tardera pas, nous l'espérons, à combler cette lacune.

Il nous reste à ajouter que cette seconde édition du *Manuel de l'inspecteur des viandes* est offerte au public avec tous les soins dont l'industrie du livre est aujourd'hui capable, les dessins et les planches exécutés d'après nature par les auteurs ont été reproduits

typographiquement avec une parfaite vérité ; nous complimentons donc en terminant l'éditeur, sans nous attarder à souhaiter à cette nouvelle édition le succès qu'elle est certaine de rencontrer auprès des micrographes, des médecins, des vétérinaires et de tous ceux qui s'intéressent aux choses de l'hygiène.

Dr M.

PUBLICATIONS RÉCENTES

PROTOPHYTES ET PROTOZOAIRES

G. Linossier et G. Roux. — Sur la nutrition du champignon du muguet (*Compte rendu de l'Académie des sciences*, t. CX, p. 355).

A. Rommier. — Sur la diminution de la puissance fermentescible de la levure ellipsoïdale de vin, en présence des sels de cuivre (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CX, p. 536).

M.W. Hafkine. — Maladies infectieuses des paramécies (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 148).

BACTÉRIOLOGIE

Th. Schœlesing — Sur la fermentation forménique du fumier (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CIX, p. 835).

Arloing — Recherches sur les diastases sécrétées par le *Bacillus heminecrobiophilus* dans les milieux de culture (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CIX, p. 842).

G. Colin. — Sur la variabilité de l'action des matières virulentes (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CIX, p. 870).

G. Sée et F. Bordas. — Recherches du pneumocoque dans la pneumonie fibrineuse, consécutive à la grippe (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CX, p. 197).

Dr Petresco. — Recherches cliniques et expérimentales sur l'antiseptie médicale (Broch. in-4°, Jassy, 1889).

Lortet et Despeignes. — Recherches sur les microbes pathogènes dans les eaux filtrées du Rhône (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CX, p. 353).

A.-B. Griffiths. — Sur une nouvelle ptomaïne de putréfaction obtenue par la culture du *Bacterium allii* (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CX, p. 416).

C. Gessard. — Sur les fonctions chromogènes de bacille pyocyanique (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CX, p. 418).

Lannelongue et Achard. — Sur les microbes de l'ostéomyélite aiguë dite *infectieuse* (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CX, p. 509).

Metchnikoff. — Études sur l'immunité (2e mémoire) (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p 65).

Gamaleia. — Sur l'exaltation de la virulence du bacille morveux (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 103).

L. Perdrix. — Vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur ; résultats statistiques (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 129).

Roux et Nocard. — A quel moment le virus rabique apparaît-il dans la bave des animaux enragés ? (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 163)

S. Arloing. — Un mot sur l'immunité naturelle (*Arch. de méd. expér. et d'anato. patho.*, janv. 1890).

P. Roeser. — Contribution à l'étude de l'influence de la température sur les variations morphologiques et évolutions des microorganismes (*Arch. de méd. cup. et d'anato. patho.*, janv. 1890).

C.-J.-A. Leroy. — Méthode pour mesurer les aberrations sphérique et chromatique des objectifs du microscope (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CIX, p. 857).

L. Erreira. — Sur la distinction microchimique des alcaloïdes et des matières protéiques (Broch. in-8, Bruxelles, A. Manceaux 1889).

A. Celli ed E. Marchiafava. — Intorno a recenti lavori sulla natura della causa della malaria. Sur de récents travaux concernant la nature de la cause de la malaria (*Estratto dal Bullettino della R. Accademia Medica di Roma*, XV, fasc. 2).

Dr Kubler. — Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Filtres sans pression, système Chamberland-Pasteur. Recherches sur la valeur des filtres sans pression, système Chamberland Pasteur (*Zeitschrift für Hygiene*, VIII, 1, p. 48).

Dr S. Kitasato. — Ueber das Wachsthum des Rauschbrand-Bacillus in festen Nährsubstraten. Sur la croissance du bacille du charbon symptomatique dans les milieux solides (*Zeitschrift für Hygiene*, VIII, 1, p. 55).

Dr Justyn Karlinski. — Zur Kenntniss der Geflügel-Cholera Contribution à la connaissance du choléra des poules (*Centrabl. für Bakteriol. u. Parasitenk.*, VII, p. 35).

M. W. Beyerinck. — Le *Photobacterium-luminosum*. Bactérie lumineuse de la mer du Nord (*Archives néerlandaises*, XXIII, p. 401

Kurth.— Beiträge zur Kenntniss des Vorkommens der pathogenen Streptococcen im menschlichen Körper. Contributions à la connaissance des streptococcus pathogènes que l'on rencontre dans le corps humain (*Berliner Klin. Wochenschrift*, 1889, n° 45).

Orloff, L. W. — Combien de temps le bacille typhique peut-il rester vivant dans le corps humain (*Wratsch*, 1889, n° 49, en russe).

M. W. Beyerinck. — L'auxanographie ou la méthode de l'hydrodifusion dans la gélatine appliquée aux recherches microbiologiques (*Extrait des Archives Néerlandaises*, XXIII, p. 367).

Max Henke. — Die Phagocytenlehre Metschnikoffs und der Gonococcus Neisser. La théorie phagocytaire de Metschnikoff et le gonococcus Neisser (Thèse, Würzburg, 1889, chez Richter).

Oberdorffer, H. J. — Ueber die Einwirkung des Ozons auf Bakterien. De l'action de l'ozone sur les bactéries (Thèse, Bonn, 1889).

H. Jager. — Untersuchungen über die Wirksamkeit-verschiedener chemischer Desinfectionsmittel bei kurz dauernder Einwirkung auf Infektionsstoffe. Recherches sur l'action de différents désinfectants chimiques mis en contact de peu de durée avec des matières infectieuses (*Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte* V, p. 247).

L'Éditeur-Gérant,
Georges CARRÉ

Tours. — Imprimerie DESLIS FRÈRES

ANNALES

DE MICROGRAPHIE

SUR QUELQUES BACTÉRIES PRODUISANT LE BOURSOUFLEMENT DES FROMAGES (1)

PAR

Ed. de FREUDENREICH

S'il existe, d'une part, un certain nombre de défauts du fromage imputables à des fautes de fabrication (cuisson trop prolongée, température trop élevée, etc.), il en est d'autres qui sont le résultat d'une véritable maladie ou fermentation anormale. Or, comme la fermentation normale ou maturation du fromage est due à l'action des microorganismes, ainsi qu'il résulte des travaux de Duclaux, Schaffer, Adametz, et d'autres (2), il est infiniment probable que la plupart de ces fermentations anormales sont également l'œuvre de bactéries spécifiques.

Parmi ces maladies, une des plus redoutées du fromager est celle du boursouflement. Au lieu de conserver la forme primitive qu'on lui a donnée sous la presse, le fromage se gonfle, il se forme d'énormes trous dans son intérieur, très différents de ceux qui accompagnent sa maturation normale et son goût se gâte en même temps. Souvent le boursouflement est si rapide à se produire et si fort que la presse sous laquelle on laisse le fromage pendant 24 heures après sa fabrication, est complètement soulevée. Jusqu'ici les

(1) Les fromages dont il s'agit ici appartiennent à l'espèce des fromages cuits dits de l'Emmenthal.

(2) Voir à ce sujet mon mémoire publié dans le tome II de ces *Annales*, p. 257.

causes les plus diverses ont été invoquées pour expliquer ce phénomène : emploi d'un lait malade, maladies de la mamelle, mauvaise aération, malpropreté des ustensiles, emploi de colostrum (lait que donne la vache après la parturition), nourriture des vaches, etc. Tout cela est assez vague et il est facile de voir que les faits incriminés ne pourront être en cause qu'en tant qu'ils peuvent apporter dans le fromage les microorganismes que depuis les recherches de Pasteur nous sommes habitués à chercher dans toutes les fermentations, qu'elles soient normales ou anormales.

Quoique ce boursouflement soit loin d'être rare, je n'ai pas eu jusqu'ici l'occasion d'étudier un fromage fraîchement atteint de cette maladie et les recherches que j'ai pu faire sur de vieux fromages boursouflés ne m'ont pas amené à isoler un microorganisme à l'aide duquel j'eusse pu reproduire expérimentalement cette maladie. Il semblerait donc qu'après avoir exercé leur action néfaste les microbes spécifiques disparaissent pendant la maturation ultérieure.

Partant toutefois de l'idée que les mammites infectieuses d'origine microbienne de la vache pourraient bien être, dans ce cas, la source de l'infection du lait et par suite du fromage, j'ai cherché à étudier l'action sur le fromage de différentes bactéries susceptibles de produire la mammite. M. le professeur Guillebeau, de Berne, eut alors l'extrême obligeance de me remettre des cultures de plusieurs bactéries qu'il avait récemment isolées dans des cas de mammites infectieuses et dont il avait constaté par des inoculations, sur des vaches et des chèvres, le caractère spécifique et pathogène. Je fis alors d'après la méthode que j'ai indiquée dans mon mémoire précité, un grand nombre de fromages d'essai. Je rappelle ici brièvement ce procédé : dix litres de lait servent à faire un fromage de contrôle, tandis qu'un second fromage est fabriqué avec dix litres également du même lait, mais que l'on inocule au moment où l'on y met la présure avec une culture pure des bactéries dont on veut étudier l'action. Les fromages sont alors tenus à la température à laquelle on soumet d'habitude les fromages frais de l'Emmenthal (environ 16°) et la comparaison avec le fromage de contrôle permet dans

la suite, de juger du résultat. Les fromages ainsi obtenus pèsent environ un kil. et ont un diamètre de 12 centimètres sur 7 centimètres de hauteur.

La plupart des microorganismes isolés par M. Guillebeau dégagent, dans le bouillon sucré, de fortes quantités de gaz; c'est à ceux-ci que je me suis adressé de préférence. Le résultat de ces essais fut absolument concluant ainsi qu'en font foi les reproductions ci-jointes en phototypie des clichés photographiques que j'ai pris de ces différents fromages. Jusqu'ici j'ai trouvé trois microorganismes, tous des bacilles, que je propose d'appeler provisoirement d'après le nom du savant qui les a isolés, je crois, le premier, *Bacillus a*, *b* et *c* Guillebeau, capables de produire dans le fromage une fermentation anormale, se traduisant par du boursouflement et par la production de trous anormaux excessivement grands et nombreux; ils donnent en même temps un goût fort mauvais au fromage. Les figures de la planche II n'ont pas besoin d'une longue explication. A droite on voit le fromage d'essai, à gauche le fromage de contrôle. La figure I nous montre l'aspect extérieur d'un fromage inoculé avec le bacille *a* et âgé de 3 jours dont le boursouflement est fortement accusé; les côtés sont absolument déformés. Dans la figure 2 on remarquera la différence entre la multitude de trous du fromage boursouflé et les quelques rares trous qui commencent à se former à ce moment dans le fromage de contrôle. Les figures 3 et 4 représentent l'action du bacille *b*. On remarquera l'aspect normal des trous du fromage de contrôle comparés à ceux du fromage inoculé. La figure 5 de la planche III montre les effets du bacille *c*. A ce moment ce fromage était âgé de 5 jours et les plaques qu'on en fit, donnèrent uniquement le bacille *c*; celui-ci paraît donc par sa concurrence avoir empêché le développement d'autres bactéries. L'analyse chimique des gaz et des produits élaborés par ces différents microorganismes promettant de fournir des résultats très intéressants, M. le professeur de Nencki a bien voulu se charger de cette étude spéciale. Le résultat de ses recherches sera publié plus tard. Ici, je me bornerai à décrire sommairement les trois microorganismes qui viennent d'être désignés et leurs fonctions principales.

Bacillus Guillebeau a. — Sur les plaques de gélatine ses colonies sont rondes, jaunâtres et granuleuses quand elles sont très rapprochées. Quand elles sont plus espacées, leur teinte devient plus foncée et le granulé moins apparent. A la surface les colonies sont en général rondes et restent granuleuses. Leurs bords sont plus clairs que le le centre qui prend une couleur foncée. Au bout de quelques jours les colonies de la surface deviennent épaisses comme une goutte de cire. Elles sont alors opaques et la granulation s'efface. A l'œil nu les colonies intérieures sont jaunes, celles de la surface blanches. Somme toute elles sont peu caractéristiques. Dans les cultures par piqûre sur gélatine, le bacille croît le long de celle-ci et à la surface sur laquelle il forme un enduit blanchâtre. La gélatine n'est pas liquéfiée. Le bouillon peptonisé est troublé en 24 heures ; en outre il se produit, dans le bouillon additionné de sucre de lait, un fort dégagement gazeux. Sur agar le bacille *a* forme un enduit blanc-grisâtre. La pomme de terre lui convient parfaitement, il y produit un épais gazon jaunâtre, visqueux et parsemé de bulles gazeuses. Il est bon toutefois d'être prévenu que l'aspect des cultures sur pommes de terre peut beaucoup varier ; il m'a paru que c'est surtout le plus ou moins d'humidité des tranches de pomme de terre qui exerce une action marquée ; ainsi, quand celles-ci sont peu humides, la culture s'étend moins, n'a pas l'air grasse et humide et ne se boursoufle pas. Il croît également bien dans le lait qu'il caille en 24 heures; les gaz produits fendillent le caillé. La température optimum est de 30-35° ; cependant à 13° il se développe encore dans le bouillon en trois jours. Il croît également bien à l'abri de l'air. Il est doué de mobilité mais celle-ci n'est pas considérable. Les couleurs d'aniline le colorent, mais plutôt faiblement ; il ne résiste pas à l'emploi du procédé de Gram.

La forme du bacille *a* peut varier considérablement depuis celle d'un micrococcus jusqu'à celle d'un bacille. Il est pour cela difficile de déterminer exactement ses dimensions. En général sa longueur est de 1 à 2 μ et même plus, et sa largeur de 1 μ. Il m'a semblé que ses formes les plus longues et les plus larges s'observaient sur de l'agar au

lait(1). La phototypie (planche III) annexée au présent mémoire le montre cultivé sur gélatine après un mois environ.

Soumis à l'action des températures de 60, 70, 80, 90 et 100° pendant 15 minutes, le bacille *a* n'a survécu qu'à la température de 60°. Dans une seconde expérience toutefois il a supporté 70° pendant 5 minutes sans en souffrir aucunement, et même pendant 10 et 15 minutes, mais avec un retard de croissance. Il a de même bien supporté 80° pendant 5 minutes, mais une simple ébullition le fait périr. Il ne semble pas former de spores, car de vieilles cultures n'ont pu de même supporter 80° pendant 15 minutes. Cette dernière température semble donc lui être fatale. Il résiste très longtemps à la sécheresse. De petits morceaux de papier joseph stérilisés imbibés d'une culture de ce microorganisme, puis desséchés, fécondent parfaitement le bouillon après 2 mois.

Sa résistance à l'égard des agents chimiques que j'ai employés, acide phénique à 5 p. 100 et sublimé à 1 p. 1000 est peu considérable. De petits morceaux de papier joseph stérilisés sont imprégnés d'une culture pure, séchés, puis placés dans les solutions antiseptiques pendant un temps variable. Après lavage dans l'eau stérilisée, dans l'alcool d'abord quand on a employé le sublimé, on les ensemence dans du bouillon sucré. Dans la plupart des expériences que j'ai faites, le bacille a résisté 10 et 20 secondes à l'acide phénique à 5 p. 100, mais pas plus longtemps. Le sublimé à 1 p. 1000 l'a toujours tué après 30 secondes ; après 10 et 20 secondes il s'est montré vivant dans une expérience, dans une autre il était déjà mort après 10 secondes.

On pourrait croire que la quantité de sublimé ou d'acide phénique que le lavage n'enlève pas a pu être cause de la stérilité des ensemencemnts. Il n'en est rien toutefois, car je me suis assuré maintes fois que lorsqu'on met dans le bouillon un morceau de papier imprégné de la solution antiseptique et puis lavé, et que l'on ensemence alors un papier non soumis à l'action de l'antiseptique on obtient une culture parfaitement normale. Il faut donc admettre que

(1) Pour préparer ce milieu on prend du lait, on le fait cailler par la présure et on additionne le petit lait d'agar et de peptone. On filtre sur de la ouate.

le bacille *a* résiste fort peu aux agents chimiques. Cependant, il m'est arrivé de le voir résister à l'acide phénique pendant 5 minutes et même une fois pendant 15 minutes avec un retard de croissance.

J'ai déjà dit que le bacille *a* dégage beaucoup de gaz ; le phénomène s'observe surtout dans le bouillon sucré, dont la surface est recouverte de bulles gazeuses, 24 heures après l'ensemencement. Dès qu'on agite le bacille, on voit des quantités de bulles gazeuses monter du fond à la surface. Depuis que je le cultive je n'ai pas encore constaté d'affaiblissement de cette fonction.

Pour mesurer l'énergie avec laquelle il consomme le sucre de lait je l'ai cultivé dans une décoction de choux additionnée de 10 p. 100 de sucre de lait, milieu qui lui convient très bien, et dosé le sucre restant d'après la méthode de Fehling. Je me suis aperçu, en effet, que ses cultures dans le bouillon de peptone, comme celles, du reste, des bacilles *b* et *c*, rendent l'emploi de la méthode de Fehling difficile, attendu qu'après la cuisson dans la solution de cuivre ses cultures dans le bouillon sucré et peptonisé, même convenablement diluées, donnent même après filtration un liquide trouble. Avec la décoction de choux sucrée, je n'ai pas constaté cet inconvénient.

Les chiffres que je donne n'ont naturellement pas la prétention d'être immuables et il est certain, pour moi, que la fonction biologique de la consommation du sucre peut aussi varier dans certaines limites comme la fonction morphologique, selon l'activité plus ou moins grande de la culture, la dose de l'ensemencement, etc. etc. Néanmoins, dans leurs grandes lignes, les chiffres obtenus permettent de se représenter l'énergie que déploie le bacille en question dans ces circonstances.

Après 1 jour	7,46 gr.	de sucre ont disparu par litre contenant au début 100 gr. de sucre de lait.
» 2 jours	12,30 gr.	de sucre ont disparu par litre contenant au début 100 gr. de sucre de lait.
» 3 »	29,00 gr.	de sucre ont disparu par litre contenant au début 100 gr. de sucre de lait.
» 20 »	46,00 gr.	de sucre ont disparu par litre contenant au début 100 gr. de sucre de lait.

En 3 semaines la moitié environ du sucre aurait donc disparu. L'acidité des cultures ne marche pas de pair avec la disparition du sucre; assez élevée au début, elle n'est pas sensiblement plus considérable à la fin de l'expérience. (Après 24 heures, il faut environ 3 à 4 centimètres cubes de la solution de soude caustique normale au quart pour neutraliser 50 centimètres cubes de culture.) On ne voit pas comme dans les cultures du ferment lactique que j'ai décrit dans un mémoire précédent sous le nom de bacille α du fromage de l'Emmenthal, les cultures s'acidifier au point d'exiger pour la neutralisation de 50 centimètres de culture, 14 centimètres cubes de la solution de soude caustique normale au quart. Il paraîtrait donc que tout le sucre consommé n'est pas changé en acide lactique. Lorsque l'acidité est neutralisée par du carbonate de chaux et qu'elle ne gêne pas la vie du bacille, la destruction du sucre est plus complète; après 14 jours sur 100 grammes de sucre le bacille *a* en avait consommé 81,39.

Bacillus Guillebeau b. — L'aspect des colonies de ce bacille sur la gélatine ressemble beaucoup à celles du bacille *a*. Les petites colonies dans l'intérieur sont peut-être un peu plus blanchâtres et la granulation un peu plus grossière; souvent aussi les colonies sont ovales; à la surface elles deviennent fortement bombées avec le temps; mais les seuls signes vraiment distinctifs que j'ai pu observer consistent en ce que les colonies sur gélatine du bacille *a* ne sont pas du tout visqueuses, tandis que quand on plonge le fil de platine dans une colonie (sur gélatine) du bacille *b*, la matière, restée adhérente au fil s'étire en mince filament, et que le bacille *b* produit, mais après plusieurs semaines seulement, une liquéfaction partielle de la gélatine, tandis que le bacille *a* ne liquéfie jamais celle-ci. Pendant les premières semaines on ne constate aucune trace de liquéfaction dans les cultures du bacille *b*.

Dans le bouillon, sucré ou non, le bacille *b* croît comme le bacille *a*, avec un fort dégagement de gaz quand il est sucré; on y voit des formes de micrococcus, de bactériums et de bacilles. Les bactériums peuvent avoir 1 μ de longueur, les bacilles de 1 à 2 μ, sur une largeur d'environ 1 μ. Ils sont aussi légèrement mobiles. Dans les cultures par piqûre

sur gélatine le bacille *b* forme un enduit en tête de clou généralement moins étendu et un peu plus jaunâtre que le bacille *a*. Dans les vieilles cultures le corps du bacille est pâle, avec un corpuscule rond au milieu se colorant plus fortement ; ceci montre qu'il ne s'agit pas de spores. Je n'ai pas jusqu'ici rencontré ces corpuscules dans le bacille *a*. Sur gélose il croît sous forme de gazon blanchâtre. Sur pomme de terre il croît également bien, mais le gazon blanc-jaunâtre qu'il forme est moins visqueux que celui du bacille *a* (1). Il se colore avec les couleurs d'aniline habituellement employées, mais plutôt faiblement, comme, du reste, les bacilles *a* et *c*. Il ne supporte pas l'emploi de la méthode de Gram. En ce qui concerne les températures auxquelles il croît, il se comporte comme le bacille *a*, et il se développe de même à l'abri de l'air.

Il résiste également plusieurs semaines à la dessication. Il a supporté, dans deux expériences, 70° pendant 15 minutes, mais 80° le tuent déjà en 5 minutes de même qu'une courte ébullition. Les vieilles cultures ne sont pas plus résistantes, ce qui ne parle pas en faveur de l'existence de spores. L'acide phénique à 5 p. 100 l'a laissé intact après 10 et 20 secondes ; après 30 secondes et plus il était mort. Toutefois, dans une expérience, il a résisté 5 minutes. Le sublimé à 1 p. 1000 le tue en 10 secondes.

Cultivé dans le bouillon de choux avec 10 p. 100 de sucre de lait, la consommation du sucre a été la suivante :

Après 1 jour 10,43 grammes de sucre disparus par litre chargé de 100 grammes de sucre de lait.
» 2 jours 20,24 grammes de sucre disparus par litre chargé de 100 grammes de sucre de lait.
» 3 » 27,17 grammes de sucre disparus par litre chargé de 100 grammes de sucre de lait.
» 10 » 49,55 grammes de sucre disparus par litre chargé de 100 grammes de sucre de lait.
» 20 » environ le même résultat qu'après du 10 jours.

Dans du bouillon sucré additionné de carbonate de

(1) La figure 7 de la planche III montre le bacille *b* dans une culture sur gélatine vieille d'un mois.

chaux, il ne restait plus, après 14 jours, qu'environ 13 grammes de sucre par litre, ce qui correspondrait à une consommation de 87 grammes sur 100.

Bacillus Guillebeau c. — Ce microorganisme appartient aussi à une classe de bacilles chez lesquels les formes ovales et en bactérium sont fréquentes. Cependant les bâtonnets d'environ 1 μ de longueur prédominent. La figure 8 de la planche III le montre dans une culture sur agar de 15 jours.

Les colonies sur plaques de gélatine ne se distinguent guère des précédentes que par leur granulation beaucoup moins fine, qui ressemble plutôt à un enchevêtrement de fils, ainsi que par leur teinte plus claire. Les colonies sont aussi très adhérentes et il est difficile d'en enlever une parcelle. Dans les cultures par piqûre, le bacille *c* produit un enduit en tête de clou qui n'a rien de très caractéristique, sauf l'adhérence de la culture au *substratum*. La gélatine n'est pas liquéfiée. Sur gélose il donne un gazon blanchâtre filant et visqueux ; sur pomme de terre ces colonies sont comme celles des bacilles *a* et *b* d'un blanc jaunâtre, boursouflées, mais elles sont adhérentes et se détachent difficilement. Dans les milieux liquides ses cultures offrent une particularité intéressante ; en peu de temps le liquide est changé en une masse visqueuse, presque gélatineuse, pouvant s'étirer en longs filaments. Cette viscosité a toutefois une tendance à disparaître avec le temps, mais elle s'observe dans tous les liquides où j'ai cultivé ce bacille, bouillon avec ou sans peptone, suc de choux et lait stérilisé. A 37° et à 25°, le bouillon est déjà très filant après seize heures et peut s'étirer en fils d'une grande longueur. Après soixante heures à 37°, le lait se caille et perd alors sa viscosité, le sérum qui reste assez abondant la conserve au contraire. A 25°, le lait n'est pas encore caillé après soixante heures, mais reste filant. Plus tard il se caille également. A 18°, le lait n'était pas encore devenu filant en seize heures. Au bout de soixante heures, il l'était. Le lait non stérilisé devient aussi un peu filant, mais moins que le lait stérilisé ; les ferments lactiques vulgaires toujours présents dans ce milieu le font se cailler avant que la viscosité ait pu se développer complètement. Je ne crois pas, pour ce motif, que le

bacille *c* joue un grand rôle dans la production des laits dits filants, la concurrence que lui font les autres bactéries du lait semblant contrarier son action. Selon la nature et le nombre de ces dernières il serait pourtant possible qu'il parvienne à prendre le dessus et à produire ce changement caractéristique dans le lait. On peut donc l'ajouter à la liste des organismes considérés jusqu'ici comme la cause du lait filant. On en connaissait déjà plusieurs : le micrococcus décrit par M. Schmidt-Mühlheim, un autre micrococcus trouvé par M. Hueppe, un bacille décrit par M. Lœffler, et un autre bacille très court récemment découvert par M. Adametz.

La température qui convient le mieux au bacille *c* est située entre 30° et 35°, pourtant il croît encore à 13°, quoique d'une façon plus lente.

A l'égard des couleurs d'aniline et du procédé de Gram il se comporte comme les microorganismes décrits plus haut.

Soumis à différents degrés de température, le bacille *c* a supporté 60° pendant 15 minutes, 70° pendant 10 minutes — dans une seconde expérience, par contre, il était mort après ce temps — et 80° pendant 5 minutes.

Le sublimé à 1 p. 1000 et l'acide phénique à 5 p. 100 l'ont, dans la plupart des expériences, tué après 10 secondes ; cependant avec ce microorganisme j'ai aussi constaté des irrégularités ; ainsi une fois je l'ai vu supporter l'acide phénique pendant 5 minutes et le sublimé 30 secondes et même une minute ; sa croissance était alors retardée. Il faut donc admettre que les cultures de ces microorganismes ne sont pas toujours douées du même degré de résistance, ou qu'elles forment des spores dans des conditions encore inconnues.

J'ai également noté la consommation du sucre dans les cultures faites dans du bouillon de choux additionné de sucre de lait.

En	24 h.	le bacille *c* avait consommé	14,10 gr. de sucre par litre chargé de 100 gr.
»	2 j.	»	»	24,55 gr. de sucre par litre chargé de 100 gr.
»	10 j.	»	»	54,00 gr. de sucre par litre chargé de 100 gr.

Après 20 jours, à peu près le même résultat.

Dans un liquide additionné de carbonate de chaux la quantité de sucre disparu était de 89 grammes par litre, après 14 jours.

Je n'ai pas à m'occuper ici de l'action pathogène de ces microorganismes qui se traduit, ainsi que je l'ai rappelé plus haut, par la production de mammites infectieuses. On pourra consulter à ce sujet le travail que publiera plus tard M. le professeur Guillebeau sur ses recherches. Injectés toutefois par la voie sous-cutanée à des lapins, ils se sont montrés dans mes expériences parfaitement inoffensifs.

Comme agents de la mammite infectieuse ces 3 microorganismes n'ont pas, que je sache, été encore décrits. M. Lucet (1) a trouvé, il est vrai, plusieurs bacilles provoquant cette maladie, mais tous se distinguent surtout par l'aspect des cultures sur pomme de terre (enduits brun, gris-rouge et jaune-roux), de ceux qu'a rencontrés M. le prof. Guillebeau. M. Bang (2) décrit aussi deux bacilles leur ressemblant microscopiquement, mais l'un liquéfie rapidement la gélatine, et l'autre lui donne une apparence trouble.

Par contre, le bacille *c* me paraît ressembler beaucoup à un *Bacillus viscosus* décrit par M. Van Laer (3), et qui rend le moût de bière et d'autres substances liquides visqueuses. Il est difficile, d'après une simple description, de s'assurer de l'identité de deux cultures, cependant il est certain que ces deux microorganismes ont beaucoup de ressemblances communes. Le *Bacillus viscosus* donne sur gélatine des colonies un peu creusées au milieu et entourées de ronds concentriques de couleurs différentes; j'ai observé quelquefois ces excavations et ces ronds concentriques dans les cultures du bacille *c*, mais pas d'une manière constante. Ce qui me paraîtrait surtout les différencier, ce sont leurs dimensions. M. Van Laer donne à son bacille une longueur de 1,6—2,4 μ et le dit très mince (0,8 μ). Le bacille *c*, au contraire, est plutôt épais, et

---

(1) Lucet, *Recueil de médecine vétérinaire*, 1889, p. 423.

(2) Bang, *B. Aarsagerne til Yverbetaendelshos Kvaeget*. (Étiologie des mammites du bétail.) 14e Beret f. d. KglVeterinaer og Landbohjokoles Laborator. for Laud ökonomische Forsög., 1889.

(3) H. Van Laer, *Note sur les fermentations visqueuses*, extrait des mémoires couronnés et autres mémoires publiés par l'Académie royale de Belgique, XLIII, 1889.

n'atteint, en général, pas la longueur dont parle M. Van Laer.

Ces trois microorganismes ne sont certainement pas les seuls susceptibles de produire une fermentation anormale du fromage. Déjà M. Adametz a trouvé, l'année dernière, dans un lait dont l'emploi dans la fabrication du fromage avait donné lieu, dans la station laitière de Sornthal, à des fermentations anormales, un micrococcus qui, inoculé dans du lait stérilisé, y provoquait une vive fermentation (1). D'après des renseignements que M. Adametz a bien voulu me communiquer depuis par lettre, ce micrococcus, introduit à l'état de culture pure dans de petits fromages d'expérience (faits avec un litre de lait seulement) y produirait à la température de 25-30° un ballonnement notable, mais seulement dans le courant de la seconde semaine; à 30-35°, au bout de quelques jours déjà. L'action des bacilles *a*, *b*, et *c* me paraît toutefois bien plus marquée et plus à craindre dans la pratique, attendu qu'elle n'exige pas une température élevée pour produire son effet, et qu'elle provoque le boursouflement des fromages dans les conditions où se trouvent ceux-ci après la fabrication (16° environ).

Un côté particulièrement important des recherches qui précèdent me paraît être la corrélation dorénavant établie entre certaines mammites infectieuses et le boursouflement des fromages. On peut en déduire que toutes les fois que cette dernière maladie fera son apparition dans une fromagerie, une des premières choses à faire sera de soumettre à un examen soigneux toutes les vaches fournissant le lait et d'exclure celles qui seraient atteintes de mammites. Peut-être m'objectera-t-on que dans mes expériences j'introduisais dans les fromages d'essai un nombre proportionnellement plus grand de microbes infectieux que celui que pourraient amener dans le lait d'une fromagerie les quelques vaches qui seraient atteintes de cette affection. Ce reproche serait toutefois sans aucun fondement.

---

(1) Adametz, *Die Bacterien normaler u. abnormaler Milch, Vortrag gehalten* im Club *der Land. u. Forstwirthe zu Wien*, am. 12 April 1889.

Dans mes expériences, j'ajoutais à 10 litres de lait environ 200 grammes d'une culture pure du bacille infectieux; une quantité bien moindre suffirait assurément pour produire le boursouflement, et je m'occupe actuellement à rechercher quelle est la quantité minimum de bacilles capable de produire cet effet. Mais dans la pratique la proportion que j'ai choisie sera le plus souvent atteinte, sinon dépassée. En effet, les mammites dont il est question restent rarement limitées à une seule vache; la quantité de lait malade importé dans une fromagerie pourra donc être considérable. Souvent ce lait mélangé avec d'autre lait n'est employé que 12 heures plus tard, dans les fromageries par exemple où l'on ne fabrique qu'un fromage par jour et où le lait du soir est conservé jusqu'au lendemain. Les microbes importés dans ce lait mélangé trouvent alors une occasion propice d'augmenter rapidement de nombre. A cet égard je me permets de renvoyer le lecteur au mémoire que j'ai publié dans le tome II de ces *Annales*, page 116, sur la teneur du lait en bactéries.

Une autre conséquence se dégage encore de ces expériences. Les trois bacilles en question ne résistant pas à la température de 100°, il sera facile, dans les cas où l'infection du lait amené du dehors continuerait à se propager par l'emploi d'ustensiles (chaudron, etc.)contaminés, de désinfecter ceux-ci par l'emploi de l'eau bouillante.

En terminant, j'ajoute que je dois les photomicrographies de ces trois bactéries à l'extrême obligeance de M. Auguste Lumière, de Lyon, qui a bien voulu se charger de reproduire mes préparations. Je suis heureux de lui en témoigner ici toute ma reconnaissance.

EXPLICATION DES FIGURES

PLANCHE II

Fig 1. — A droite : Aspect extérieur, trois jours après sa fabrication, d'un fromage boursouflé fait avec du lait ensemencé avec le bacille Guillebeau *a*. A gauche le fromage de contrôle sain fait avec du lait non contaminé.

Fig. 2. — A droite : Aspect intérieur du fromage boursouflé de la *fig.* 1. A gauche : intérieur du fromage de contrôle.

Fig. 3. — A droite : Aspect extérieur, dix jours après sa fabrication, d'un fromage fait avec du lait ensemencé avec le bacille Guillebeau *b*. On remarque outre le boursouflement rendu visible surtout par l'arrondissement des bords, les déchirures qui se sont produites dans la croûte. A gauche : le fromage de contrôle sain.

Fig. 4. — A droite : Intérieur du fromage boursouflé de la *fig.* 1. A gauche : intérieur du fromage de contrôle.

PLANCHE III

Fig. 5. — A droite : intérieur d'un fromage boursouflé, cinq jours après sa fabrication, fait avec du lait ensemencé avec le bacille Guillebeau *c*. A gauche : intérieur du fromage de contrôle sain. Chez le premier le boursouflement n'était pas très manifeste à l'extérieur, on remarquera cependant la courbure assez prononcée des côtés qui manque dans le fromage de contrôle. A l'intérieur la différence est frappante ; tandis que le fromage de contrôle n'accuse pas encore la formation de trous, le fromage inoculé est déjà rempli de trous irréguliers et souvent de vaste dimension.

Fig. 6. — Bacille *a*. Culture sur gélatine vieille d'un mois. gros : 1250 diamètres.

Fig. 7. — Bacille *b*. Culture sur gélatine, vieille d'un mois. gros : idem —

Fig. 8. — Bacille *c*. Culture sur gélose âgée de quinze jours. gros : 750 —

Fig. 1.

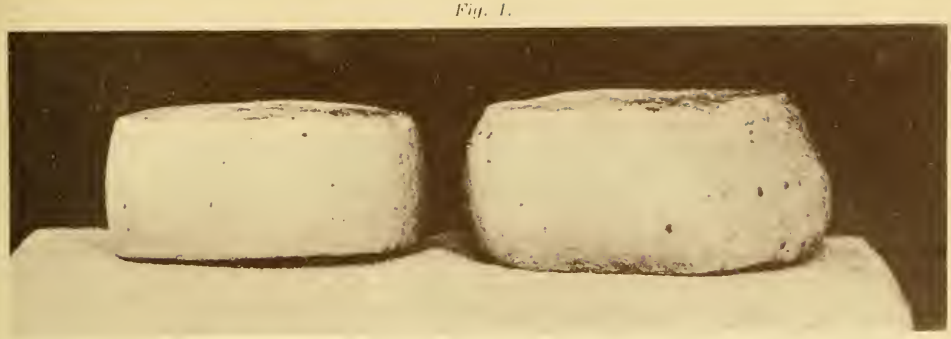


Fig. 2.

Fig. 3.

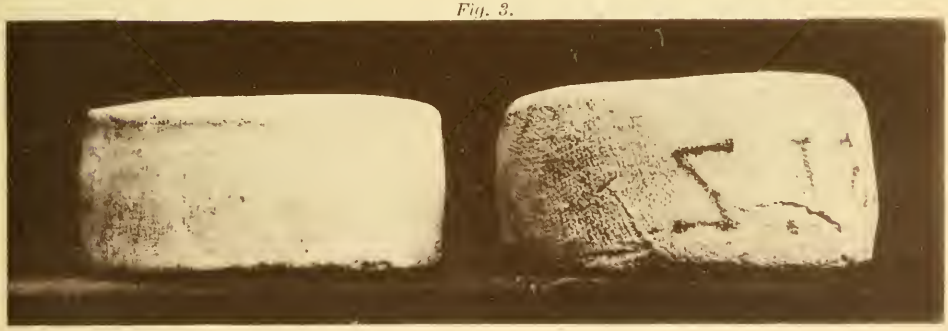


Fig. 4.

Photolypie F. THÉVOZ & Cie, Genève.

BOURSOUFLEMENT DES FROMAGES

Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 7.

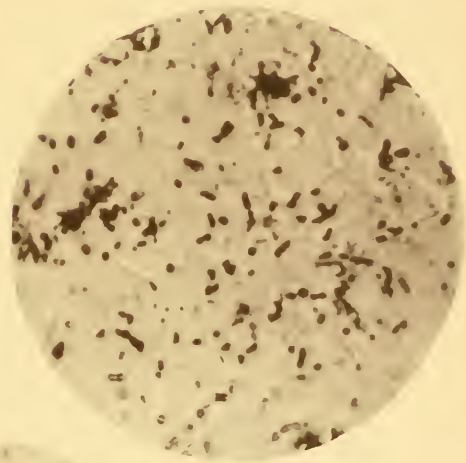
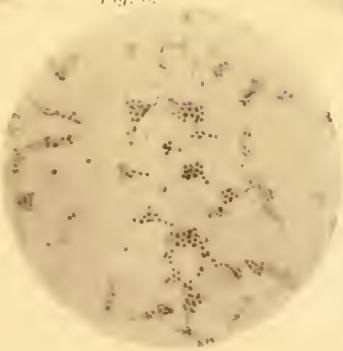


Fig. 8.



Photolypie F. Thevoz & Cie, Geneve

BOURSOUFLEMENT DES FROMAGES

ÉTUDE SUR LA FERMENTATION AMMONIACALE

ET SUR LES FERMENTS DE L'URÉE (*suite*)

Par le Dr P. MIQUEL

---

§ III. — Description des espèces

Urobacillus Freudenreichii *sive* **Bacillus ureæ** γ

Cette espèce, qui, comme les précédentes, a fait il y a plus d'un an l'objet d'une courte description dans l'*Annuaire de l'Observatoire de Montsouris* pour 1889, doit être considérée comme intermédiaire entre les bacilles urophages très actifs et les bacilles urophages à action lente. Elle se distingue nettement des deux ferments ammoniacaux qui viennent d'être décrits par un pouvoir hydratant plus faible, et le peu de rapidité avec lequel elle l'exerce.

Au commencement des fermentations, ce bacille se rapproche par la forme, sa grosseur et la disposition de ses bâtonnets de l'*Urobacillus Pasteurii*, avec cette différence que les chaînes d'articles sont plus longues et douées de mouvements ondulatoires plus amples; cependant un diagnostic différentiel basé sur des caractères aussi précaires serait bien peu solidement établi, surtout, si les propriétés physiologiques de l'*Urobacillus Freudenreichii* étaient voisines de celles de l'*Urobacillus Pasteurii;* heureusement il n'en est rien : ce dernier microbe peut hydrater 3 grammes d'urée par heure, tandis que le premier en hydrate à peine 0 gr. 3, soit environ dix fois moins. L'*Urobacillus Pasteurii* peut en outre, dans une solution convenablement nutritive, détruire jusqu'à 140 grammes d'urée dissous par litre, le bacille que je dédie à mon ami

de Freudenreich peut à peine en décomposer 45 a 47 grammes. Il présente également un polymorphisme assez curieux quoique assez banal, mais ses cultures dans les urines, les bouillons, la gélatine, offrent des caractères si spéciaux que toute confusion devient impossible quand on a en main des espèces pures.

Il est d'ailleurs aisé lorsqu'on se trouve en présence de plusieurs microbes voisins de forme de multiplier à l'infini les contrastes qui peuvent les faire distinguer ; pourtant je ne pense pas qu'on doive abuser de ce mode de recherches ; la mise en évidence de deux ou trois caractères bien tranchés suffit dans la majorité des cas, une exagération dans ce sens complique le diagnostic, obscurcit les descriptions en leur ôtant leurs qualités principales, qui doivent être la simplicité et la concision.

Habitat. — Je n'ai pas eu l'occasion de constater souvent la présence dans l'air de l'*Urobacillus Freudenreichii*, ni de l'isoler des poussières brutes de l'atmosphère qui s'accumulent dans les cabinets d'aisance mal tenus et des sédiments des urinoirs publics ; cependant on peut le retirer facilement du sol des rues, du fumier des ruminants, des eaux de la Seine et d'égouts, où sa présence est assez fréquente ; en revanche il est très rare de le rencontrer dans les eaux de sources, même quand elles renferment un demi-millier de bactéries par centimètre cube.

La meilleure façon de se procurer cette espèce consiste, à éliminer les organismes incapables de résister pendant 5 à 6 heures à la température de 65 à 70° ; puis à fabriquer avec l'eau ainsi chauffée des plaques en flacons coniques avec de la gélatine chargée à 20 p. 1,000 d'urée, enfin à étudier les unes après les autres les colonies entourées d'une auréole de cristaux, en rejetant celles qui peuvent déterminer la fermentation complète de l'urine artificielle en 48 heures ou qui peuvent la provoquer dans une urine chargée de 1 : 2,000 de sulfate cuprique. Le cuivre, comme on le verra du reste plus bas, est un poison très énergique pour cet urobacille, on peut donc dans un premier triage utiliser le pouvoir toxique de ce métal pour le différencier d'autres ferments de l'urée sur lesquels il exerce une moindre influence. Il reste à purifier le microbe

par plusieurs séries de cultures dans l'urine et la gélatine chargée d'urée.

Fonctions physiologiques de l'Urobacillus Freudenreichii. — Prenons le cas le plus simple, introduisons dans une demi-douzaine de gros flacons à demi-pleins d'urine humaine normale stérilisée par son passage à travers la bougie Chamberland, quelques germes de cet urobacille, et plaçons cette urine naturellement acide à l'étuve vers 30°. Il se passe d'ordinaire plusieurs jours de quatre à six avant que rien n'apparaisse dans le liquide, pourtant en examinant de très près la paroi inférieure des vases on voit se former comme une sorte de nuage léger, visqueux, peu visible, au point où est tombée la graine; plus tard, presque subitement, en 15 ou 20 heures, le liquide se trouble fortement, il a perdu son acidité, est devenu ammoniacal, et un dépôt blanc abondant se précipite au fond du vase. L'urine possède encore l'odeur spéciale qu'elle présente au moment de son émission de la vessie, mais cette odeur est relevée par une pointe d'alcali volatil pur. On peut constater à cet instant la disparition de 5 à 10 grammes d'urée par litre; les jours suivants, l'alcalinité augmente, le liquide se clarifie en devenant plus foncé, de beaux cristaux longs et prismatiques groupés en étoiles rayonnantes se fixent même sur la paroi verticale des flacons, enfin, bien avant que la fermentation soit complète, le liquide est redevenu d'une limpidité irréprochable. Il peut arriver également, si la graine de l'urobacillus est vieille et quelque peu maltraitée par le carbonate d'ammoniaque, que les flacons d'urine normale stérilisée à froid ne soient pas altérés.

L'analyse du phénomène précédent n'offre pas de bien grandes difficultés, d'abord le bacille se rajeunit très péniblement dans l'urine normale, c'est-à-dire acide, malgré la présence des principes animaux nutritifs altérables par la chaleur qu'elle conserve; le développement initial du microbe est très lent, il a à lutter contre l'acidité du milieu et ce travail semble particulièrement pénible; cependant, contrairement à plusieurs autres urobacilles beaucoup plus actifs, il l'accomplit seul, alors que pour choisir un exemple l'*Urobacillus Duclauxii* réclame ce travail à une espèce saprogène quelconque, cette tâche étant au-dessus de ses

forces. Ce fait doit vraisemblablement se rencontrer fréquemment dans la nature et il ne doit pas être rare de trouver des espèces qui demandent l'aide et l'assistance d'un autre microbe pour mener à bien l'acte chimique dont elles sont capables, mais qu'elles sont dans l'impossibilité de commencer dans certaines conditions. Revenons à l'*Urobacillus Freudenreichii ;* l'acidité de l'urine ayant disparu, la fermentation marche rapidement, cependant quand la dose de carbonate d'ammoniaque produit correspond à la décomposition de 14 à 16 grammes d'urée, elle se ralentit considérablement sous l'action néfaste de ce sel et par le manque d'éléments nutritifs aptes à substanter confortablement l'espèce microscopique, d'où comme conséquence : la chute au fond du vase du bacille mobile pendant les premiers jours, la clarification de l'urine, etc.....

Voici quelques exemples de la fermentation causée par l'*Urobacillus Freudenreichii* semé dans l'urine normale stérilisée à froid par filtration à travers la porcelaine.

Urine normale acide stérilisée à froid

	Urée disparue par litre :		
	I	II	III
Après 3 jours	1 8	»	»
» 4 »	8 9	7 3	9 5
» 5 »	14 3	13 3	16 3
» 6 »	15 7	»	»
» 7 »	16 1	»	18 5
» 8 »	»	18 2	»
» 9 »	16 6	18 2	18 4

Avec les urines humaines stérilisées à 110° la fermentation s'établit plus vite et marche généralement avec plus de rapidité. Le bacille les trouble assez fortement pendant les premiers jours, puis se précipite avant la fin de l'hydratation sur la paroi inférieure du vase en donnant une pellicule muqueuse, assez épaisse, résistant quelque temps au soulèvement et à la désagrégation cherchée en imprimant au liquide de la culture un mouvement giratoire vif ; cette pellicule ressemble à une forte toile d'araignée et diffère totalement des dépôts que l'on voit se former dans les

urines artificielles sous l'action du même microbe; en un mot, ce dépôt constitue un voile formé par *descensum* tandis que beaucoup de bactéries possèdent, on le sait, la propriété inverse, celle de former des voiles par *ascensum* à la surface des cultures liquides.

La fermentation complète de l'urine normale stérilisée à 110° par l'*Urobacillus Freudenreichii* exige généralement sept jours à partir du moment de l'ensemencement. La rapidité de cette hydratation est d'ailleurs subordonnée à la richesse du liquide en urée.

Urine normale stérilisée à 110°

	Urée disparue par litre :											
	I		II		III		IV		V		VI	
Après 24 h.	2 gr	1	»		1 gr	9	»		2 gr	3	2 gr	6
» 2 j.	7	5	»		4	3	4 gr	3	5	4	8	4
» 3 »	12	9	5 gr	7	10	0	10	7	»		11	6
» 4 »	»		8	9	13	2	12	8	»		15	3
» 5 »	17	1	11	1	16	2	15	0	15	0	17	2
» 6 »	19	4	15	0	17	8	17	8	17	5	19	6
» 7 »	21	4	17	9	18	5	18	5	»		20	9
» 8 »	21	6	17	7	18	4	18	5	17	3	20	3

Avec l'urine naturelle, purgée de germes à 110°, placée à 30°, l'alcalinité ne devient, comme on le voit, bien sensible qu'après les 48 heures qui suivent l'ensemencement. La décomposition de la carbamide, habituellement rapide du 2e au 3e, et du 3e au 4e jour, se modère à la fin de la fermentation. Si les urines proviennent de la même source, les résultats qu'on obtient sont presque mathématiquement concordants (essais III et IV); si elles ne sont pas identiques, on peut observer des retards ou des accélérations dans l'acte fermentaire, ce qui se comprend aisément étant donnée la composition si variable des urines des personnes jouissant même d'une santé parfaite.

Les urines artificielles chargées de 20 grammes d'urée par litre se troublent également assez fortement sous l'influence de l'*Urobacillus Freudenreichii*, et redeviennent limpides avant la fin de la fermentation ; mais ici le dépôt qui apparaît au fond du vase n'adopte jamais la forme

précédemment signalée et dite *toile d'araignée;* en agitant le liquide de culture, il se détache de la paroi inférieure du vase quelques stries muqueuses translucides peu abondantes qui semblent se redissoudre dans le liquide, et le rendent louche, visqueux et susceptible de mousser. Dans ce cas, comme dans les précédents, les urines artificielles fermentées possèdent une odeur franchement ammoniacale, c'est-à-dire sans arrière-odeur putride ou aromatique.

1re Série. — *Urine artificielle chargée de* 20 *grammes d'urée par litre*

	Urée disparue par litre :					
	I	II	III	IV	V	VI
Après 24 h.	4gr3	»	»	7gr3	»	4gr6
» 2 j.	10 7	8 6	11 5	14 0	12 5	11 4
» 3 »	15 0	18 9	18 2	18 1	17 8	16 8
» 4 »	17 3	20 0	19 9	19 7	19 9	19 8

2e Série. — *Urine artificielle chargée de* 20 *grammes d'urée par litre*

	Urée disparue par litre :					
	I	II	III	IV	V	VI
Après 24 h.	»	6gr4	5gr7	2gr2	7gr1	»
» 2 j.	10gr6	11 6	10 7	8 9	13 2	9gr8
» 3 »	16 3	17 2	15 7	16 7	18 5	16 9
» 4 »	19 7	19 8	19 8	»	20 0	19 8

3e Série. — *Urine artificielle chargée de* 20 *grammes d'urée par litre*

	Urée disparue par litre :					
	I	II	III	IV	V	VI
Après 24 h.	3gr6	6gr6	8gr9	2gr5	»	8gr3
» 2 j.	»	11 8	12 5	8 2	10gr4	14 1
» 3 »	16 8	17 3	16 1	12 5	16 6	18 0
» 4 »	19 7	19 8	»	17 4	19 9	19 8

Pour des causes qui tiennent à la lenteur du développement du bacille et à son adaptation plus ou moins prompte au milieu chargé d'urée dans lequel on le place, il est rare de constater la disparition du tiers de la carbamide

24 heures après l'ensemencement ; cependant, ce fait s'observe parfois quand on porte dans les urines artificielles un bacille jeune ou des germes frais provenant d'une culture dans le bouillon ou sur la gélatine. Quoi qu'il en soit, au bout de 48 heures plus de la moitié de l'urée a généralement disparu et, en 4 jours, la fermentation se complète.

En recherchant exactement l'heure du début de l'hydratation de l'urée, et le moment précis où cette hydratation se termine, on a la preuve que la fermentation complète de l'urine artificielle prise pour type exige environ 72 heures, c'est-à-dire 3 jours. L'expérience établit d'ailleurs directement que la conversion de l'urée en carbonate d'ammoniaque sous l'action de l'*Urobacillus Freudenreichii* s'effectue en moyenne à raison de 0 gr. 25 à 0 gr. 30 par heure, alors que l'*Urobacillus Pasteurii* se montre 10 fois plus actif. Si donc, l'examen microscopique direct laissait incertaine la différenciation de ces deux espèces, réellement très voisines de forme, toute hésitation dans le diagnostic disparaîtrait devant l'épreuve physiologique à laquelle il est toujours indispensable de recourir.

Quand on charge le bouillon peptonisé de 50 grammes d'urée par litre, la fermentation par l'Urobacille de Freudenreich se déclare facilement, mais je ne l'ai jamais vue se compléter entièrement.

Urine artificielle chargée de 50 grammes d'urée par litre

	Urée disparue par litre :									
	I		II		III		IV		V	
Après 2 jours	8	4	5	3	9	3	4	4	»	
» 3 »	14	3	11	4	16	4	9	1	»	
» 4 »	20	7	16	2	»		14	6	25	0
» 5 »	»		22	3	23	6	19	8	»	
» 6 »	28	6	»		24	7	25	2	33	9
» 7 »	32	1	33	5	25	1	30	2	»	
» 8 »	33	6	36	4	»		34	7	41	6
» 9 »	34	6	40	1	25	6	»		»	
» 10 »	35	0	40	9	»		35	9	43	
» 15 »	»		44	3	30	2	42	3	46	6

Sur les 5 essais qui viennent d'être rapportés, aucun ne

donne l'exemple d'une fermentation achevée après 15 jours d'attente. Dans ces expériences, l'hydratation de l'urée se ralentit considérablement dès que le poids de carbonate d'ammoniaque répandu dans la liqueur atteint une trentaine de grammes. Si ces urines sont conservées à l'étuve pendant une quinzaine de jours, on constate que le poids du carbonate d'ammoniaque augmente sensiblement, ce qui semble démontrer que l'espèce toujours vivante croît botaniquement, sécrète de l'urase, laquelle est : ou péniblement utilisée pour transformer l'urée restée présente dans la liqueur, ou partiellement détruite.

Les cultures en vases scellés de l'organisme dont il est ici question avec des urines chargées de 50 et de 100 grammes d'urée n'ont pas accusé une capacité hydratante plus élevée.

Teneur du bouillon en urée	Urée disparue par litre :					
	I	II	III	IV	V	VI
Bouill. à 50 gr. d'urée	31gr4	36gr7	45gr7	35gr6	43gr3	41gr8
» à 100 gr. »	28 3	2 5	34 3	47 1	22 6	44 0

L'*Urobacillus Freudenreichii* est donc un ferment de l'urée moyennement actif, caractérisé physiologiquement par la faculté de transformer par heure 0 gr. 25 à 0 gr. 30 d'urée en carbonate d'ammoniaque et par une capacité fermentaire ne lui permettant pas de décomposer une quantité d'urée supérieure à 50 grammes dissous par litre de bouillon peptonisé.

De la fermentation par l'Urobacillus Freudenreichii. — Les ferments ammoniacaux très actifs acquièrent généralement un faible développement dans les milieux chargés de carbamide, ce qui tient évidemment à l'action néfaste qu'exerce l'ammoniaque sur la cellule vivante. Aussi, moins une bactérie est capable d'exercer une action prompte sur l'urée et plus son développement botanique est considérable. Cette règle n'est pas absolue, car il existe des ferments très peu actifs pour lesquels les urines normales et artificielles sont toujours de mauvais milieux de culture, et où ils se développent très faiblement. Cependant, il est incontestable que les cultures de tous les ferments ammoniacaux sont plus prospères là où il n'y a pas d'urée, que là où il en

existe en quantité notable. Il faut donc rejeter comme inexacte l'affirmation des auteurs qui considèrent au contraire les urines diverses comme plus favorables au développement des ferments ammoniacaux que les milieux exempts d'urée. Un excès d'ammoniaque ne saurait être plus favorable aux bactéries de toute nature qu'un excès de strychnine se montrer sans action sur la tribu des animaux vertébrés; les bactéries peuvent avoir des habitats bien différents de ceux où on a coutume de les voir évoluer en produisant un phénomène chimique ou pathologique qui tombe sous les sens, ce fait n'est pas sans importance quand il s'agit de microbes doués d'une action nocive plus ou moins redoutable. On se méfie, et cela non sans raison, des émanations, des déjections, des crachats des scarlatineux, des typhiques, des tuberculeux qui sont, si l'on peut s'exprimer ainsi, des milieux accidentels de culture, mais il importe de ne pas perdre de vue qu'il existe peut-être autre part des milieux permanents de culture de ces mêmes espèces. Parce qu'une bactérie se rencontre ordinairement dans les tissus, dans le sang ou la lymphe, il n'existe *a priori* aucun motif pour faire rejeter l'idée qu'elle peut se développer mieux encore dans l'étang, le marais voisins, ou dans le ruisseau qui étale ses eaux sales dans les rues mal entretenues dépourvues d'égouts.

On ne saurait donc être surpris de trouver dans la nature des ferments ammoniacaux très florissants là où il n'existe pas d'urée; je dois même ajouter que ces cultures en dehors des milieux que l'on considère à tort comme des bouillons ou des *substrata* de prédilection, leur donne un regain d'activité et de vitalité. Les cultures successives dans les urines de la plupart des ferments de l'urée loin d'exalter leurs facultés physiologiques finissent au contraire par les atténuer à tel point que l'espèce abâtardie devient de plus en plus impropre à produire une bonne fermentation. Les cultures en générations successives, appliquées à un grand nombre d'espèces urophages, conduisent le plus souvent à l'obtention de ferments figurés dont le rajeunissement devient très pénible, quelquefois impossible. Ces vieilles générations, atténuées dans leurs fonctions physiologiques, rajeunies dans des bouillons ou sur de la gélatine

peptonisés y récupèrent presque d'emblée leurs qualités premières.

Pour accomplir un acte fermentaire capable de transformer 20 grammes d'urée en carbonate d'ammoniaque, l'*Urobacillus Freudenreichii* fournit un poids de cellules relativement élevé, si on le compare au poids que donnent dans les mêmes conditions les *Urobacillus Pasteurii* et *Duclauxii;* ce poids, déduit de deux expériences pratiquées avec l'urine artificielle prise pour type, est de 1 gramme par 317 grammes d'urée dédoublée (1). Je n'insisterai pas plus longuement sur les phénomènes de nutrition qui accompagnent le développement de ce nouveau microbe, j'ajouterai seulement que cette espèce, comme les précédentes, dans ses cultures dans le bouillon ordinaire secrète une certaine quantité d'urase qu'on peut déceler en faisant agir le bouillon sur une solution d'urée.

(*A suivre.*)

---

(1) *Première expérience.* — Bouillon chargé de 20 grammes d'urée
Filtre + 0 gr. 733 = tare 1 gramme.
Après filtration du bouillon complètement fermenté :
Filtre + 0 gr. 664 = tare 1 gramme.
Différence = 0 gr. 069, rapport = $\frac{20.000}{66}$ = 290.

Deuxième expérience. — Bouillon chargé de 20 grammes d'urée.
Filtre + 0 gr. 716 = tare 1 gramme.
Après filtration de bouillon complètement fermenté :
Filtre + 0 gr. 658 = tare 1 gramme.
Différence = 0 gr. 058, rapport = $\frac{20.000}{58}$ = 344.
Moyenne des deux rapports = 317.

NOTE SUR LES FLAGELLA DU MICROBE DU CHOLÉRA

PAR

M. G. F. DOWDESWELL, M. A. F. R. S.

Dans le vol. V, p. 81, du *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, M. R. Neuhaus dit que dans les cultures récentes du microbe du choléra le microscope ne permet pas de déceler de flagella chez les bacilles vivants qu'elles contiennent, mais que dans les cultures plus âgées on trouve des spirilles de dimensions plus grandes qui, à l'observation directe, paraissent également dénuées de flagella, mais qui, sur des microphotographies, montrent distinctement cet appendice. On trouvera une analyse de ce travail dans les *Fortschritte der Medicin*, 1889, 7, p. 397 et dans le n° 6 de ces *Annales*, p. 297.

Ceci, toutefois, est erroné et de nature à égarer l'expérimentateur. Il est vrai que chez les spirilles d'un âge plus mûr et de dimensions relativement considérables, les flagella sont plus épais et plus apparents que chez les bacilles virgules de moindres dimensions, qui se développent les premiers, mais il n'est ni impossible ni même difficile, en employant une méthode appropriée, de rendre visible pour l'œil l'existence de ce détail même chez les organismes plus petits (c'est-à-dire en formes de virgule). Le premier qui les a observés est, je crois, M. E.-M. Nelson de Londres qui dessina à l'œil nu les flagella qu'il avait constatés chez les formes en virgule. Son dessin a été montré, en 1886, à la Société royale de microscopie de Londres. Dans la suite il les fit voir, sous le microscope à différents observateurs. Dans le courant de la même année j'ai moi-même dessiné à la chambre claire des flagella dont j'avais constaté, dans différentes préparations, la présence chez

plusieurs microbes, virgules et spirilles. Ces dessins furent également présentés et donnés à la Société royale de microscopie.

Il est parfaitement exact que la photographie révèle certains détails de structure invisibles à l'œil armé du microscope, cependant il n'est pas difficile, en employant une méthode convenable, de faire voir directement les flagella de ce microbe, qui atteint des dimensions relativement considérables dans les formes en spirilles.

Une rétine normale et un objectif possédant de bonnes qualités optiques et un angle d'ouverture modéré, suffisent pour cela, à condition d'avoir un éclairage approprié. A cet effet, on n'a besoin que de la flamme d'une lampe ordinaire à pétrole, dirigée de côté sur la préparation et illuminée par un condenseur achromatique. Celui-ci doit être centré avec soin, de façon à pouvoir employer un éclairage central. La lumière oblique n'est pas nécessaire pour cet objet et pourrait, au contraire, donner des résultats qui égareraient l'observateur. Un éclairage direct par la flamme est aussi préférable à l'emploi du miroir.

La méthode de coloration a peu d'importance. Une solution aqueuse de violet de gentiane vaut peut-être autant que n'importe quelle autre couleur. Il faut, par contre, être plus attentif dans le choix de la méthode employée pour monter les préparations. Le Dr R. Koch a déjà observé dans un mémoire, paru il y a douze ans, et dans lequel il a, en grande partie posé les bases des méthodes aujourd'hui en vogue dans la microbiologie (*Beitrage zur Biologie der Pflanzen der* Dr F. Cohn, II, 3, p. 407, 1877), qu'il ne réussissait jamais à photographier les flagella des bactéries montées dans le baume de Canada, et, que, pour cela il était nécessaire de les monter dans une solution d'acétate de potasse. J'ai pu m'assurer de la parfaite exactitude de ce fait.

En suivant la méthode brièvement exposée ici, on ne rencontrera pas de grandes difficultés pour démontrer l'existence des flagella de ces microbes, soit même d'objets encore plus petits, comme par exemple les flagella du *Bacterium termo*, ce qui a été fait, il y a plusieurs années déjà, par le Dr Dallinger, bien avant l'introduction des objectifs à

immersion homogène, dans le sein de la même Société royale de microscopie. Dans ce cas, les microbes ont été observés à l'état vivant et sans coloration. Il a également mesuré la largeur de ce flagellum au moyen d'une méthode soigneuse, ainsi qu'on peut le lire dans le journal de cette Société (1878, p. 170).

Le microbe qui a servi à ces expériences était beaucoup plus petit que les spirilles du choléra parvenus à leur entier développement, il n'était pas coloré et n'était observé qu'au moyen d'une immersion à eau. La difficulté à vaincre était donc considérablement plus grande. Avec les moyens actuels dont dispose la technique microscopique toutefois, cet objet est d'une démonstration relativement facile ; il en est d'autres qui sont encore plus minutieux et plus délicats, parmi lesquels nous citerons par exemple à propos du présent sujet, la question de savoir si les flagella des schizophytes sont la continuation de la paroi ou du protoplasme de la cellule. Démontrer cela est une tâche qui fait appel aux amplifications microscopiques les plus puissantes, aux manipulations les plus délicates et qui réclamera peut-être l'aide de la photographie, ce que n'exige pas certainement l'examen relativement plus facile dont nous venons de parler.

REVUES ET ANALYSES[1]

Balbiani. — **Sur la structure intime du noyau du *Loxophyllum meleagris* (*Zoologischer Anzeïger*, n°s 329 et 330, 1890).**

Tous les auteurs s'étaient jusqu'ici accordés à considérer le noyau des infusoires comme constitué par une substance homogène plus ou moins granuleuse. Quelques-uns cependant tels que Carnoy, Jikeli, Leydy y distinguaient une trame fibrillaire, réticulaire ou spongieuse. Bütschli enfin y voyait une véritable structure alvéolaire. En étudiant le noyau moniliforme d'un infusoire trachélien de grande taille le *Loxophyllum meleagris* et en s'aidant de procédés particuliers de technique, M. Balbiani a pu se convaincre que le noyau présentait une structure parfaitement nette et qu'aucun observateur n'avait encore soupçonnée avant lui. Chaque article nucléaire en effet se compose d'un boyau strié plus ou moins contourné plongé dans un suc nucléaire finement granuleux. Ces granulations du suc nucléaire absorbant les matières colorantes masquent le boyau et c'est ce qui explique pourquoi elles ont seules été observées par tous ceux qui se servaient des moyens de coloration nucléaire habituels.

A l'état frais et au moyen d'une légère compression l'on observe très bien le boyau nucléaire qui tranche en clair sur un fond granuleux dans lequel il est plongé ; mais pour en étudier la structure intime et le suivre dans ses nombreuses circonvolutions, il est nécessaire d'avoir recours à un artifice de préparation. M. Balbiani fixe donc l'infusoire comprimé par l'acide osmique à 0,5 p. 100, il fait passer un courant de vert de méthyle acétique qui, au début de son action permet déjà de voir le boyau nucléinien mais la surcoloration se produisant bientôt fait disparaître celui-ci. On fait passer alors un courant d'eau ammoniacale (2 gouttes d'ammoniaque pour 15 à 20 grammes d'eau distillée) qui décolore complètement le noyau et le gonfle fortement. Si l'on enlève ensuite l'eau ammoniacale par un courant de vert de méthyle non

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

acidulé et en solution faible le noyau garde la turgescence occasionnée par l'ammoniaque et les boyaux nucléaires seuls se colorent en vert. Ils ont seulement changé d'aspect et ont revêtu la forme de tronçons soit homogènes, soit constitués par les séries de granulations régulièrement alignées.

Nous transcrivons ici les conclusions qui terminent l'intéressant travail de M. Balbiani :

1° Le noyau du *Loxophyllum meleagris* est formé d'un nombre variable d'articles ou segments (jusqu'à 20 et plus) reliés les uns aux autres par la membrane d'enveloppe mais absolument distincts quant au contenu.

2° Le contenu de chaque article est constitué par un ou plusieurs cordons nucléaires formant des circonvolutions plus ou moins nombreuses et par une substance intermédiaire ou suc nucléaire très riche en granulations.

3° En présence de la question encore discutée de savoir si le noyau cellulaire envisagé d'une manière générale renferme à l'état de repos un filament chromatique unique ou plusieurs filaments libres et distincts, la disposition ci-dessus indiquée du noyau du *L. meleagris* prouve que dans certains cas au moins cette dernière condition est réalisée.

4° Les cordons nucléaires présentent une situation transversale très fine analogue à celle qu'on observe dans les noyaux des cellules de la larve du *Chironomus*, striation probablement due, comme dans ces derniers noyaux, à des disques de chromatine alternant avec les couches de substances chromatiques.

5° Une solution faible d'ammoniaque détermine en les gonflant la fragmentation des cordons nucléaires en tronçons plus ou moins nombreux dont l'axe est occupé par un filament chromatique homogène ou une rangée de granulations chromatiques et la périphérie par une couche assez épaisse de substance achromatique homogène.

6° Il n'existe pas dans le noyau d'éléments figurés comparables à des nucléoles ; ceux-ci sont probablement représentés par les granulations abondantes du suc nucléaire, si l'on en juge par la propriété que présentent ces granulations de retenir assez fortement les matières colorantes.

F. D.

Hertwig Richard. — **Sur la conjugaison des infusoires** (Ueber die conjugation der Infusorien) (*Abhandlungen der k. bayer Akademie der Wiss*, II, Cl. XVII, Bd. I Abth., in-4, 83 pages, 4 pl.).

Le travail du professeur Hertwig est en quelque sorte une monographie du *Paramœcium aurelia ;* c'est sur cette espèce qu'ont

porté ses études de conjugaison, et il les a heureusement complétées par un chapitre spécial sur la structure anatomique de cette Paramœcie.

L'auteur a divisé son travail en cinq parties précédées d'une introduction où il donne quelques détails de technique sur lesquels il convient de s'arrêter un instant. Les Paramœcies recueillies dans les vases de culture à des intervalles de temps régulièrement espacés sont fixées par les acides picro-acétiques, l'acide chromique, ou les acides chromo-acéto-osmiques. On colore dans l'étuve à chaud par le carmin boraté et après lavage par les alcools chlorhydriques de force graduée on monte dans la glycérine ou dans l'essence de girofles. Ce dernier milieu est préférable au baume du Canada pour deux raisons : il laisse voir plus distinctement la striation des fuseaux et permet de tourner et de comprimer à volonté les objets.

I. *Remarques sur l'organisation des Paramœcies.* — L'auteur admet la distinction établie par Maupas entre le *Par. caudatum* et le *Par. aurelia*. C'est sur cette dernière espèce seule qu'ont porté ses observations ; les individus de cette espèce présentent toujours d'après Maupas deux nucléoles, ce qui les distingue du *Par. caudatum* qui n'en a qu'un seul. L'observation de Maupas est confirmée par M. Hertwig.

A l'état de repos le noyau du *Par. aurelia* offre une forme ovale et adhère intimement au protoplasma. Traité par les réactifs il se sépare un peu de celui-ci, perd sa régularité et montre alors des découpures plus ou moins profondes qui lui donnent un aspect lobé en même temps que sous l'influence de la contraction il laisse voir une membrane d'enveloppe très distincte et presque à double contour. La substance du noyau à l'état frais est finement granuleuse. Traitée par les réactifs, elle laisse voir des granulations de grandeur variable dont l'arrangement donne l'impression d'un reticulum.

Les nucléoles sont toujours écartés les uns des autres, et aussi du noyau, plus rarement que chez d'autres espèces on les trouve enclavés dans une encoche de ce dernier.

La bouche, tant à l'état de repos qu'à celui de division, a été l'objet d'une étude très approfondie et les résultats auquels est arrivé l'observateur constituent un des points les plus intéressants de son travail. A l'état de repos, la bouche est une ouverture ovalaire, amincie postérieurement et sur le bord antérieur de laquelle naît une large bande portant une membranelle qui s'enfonce dans le pharynx en s'inclinant sur la gauche. Cette bande est finement striée dans les deux sens. Les stries transversales donnent naissance à des membranelles ou à des faisceaux de cils vibratiles, point que l'auteur n'a pu complètement éclaircir. Nous verrons plus loin ce que devient cette bande striée au moment de la division transversale des paramœcies.

II. — *Phénomènes externes de la conjugaison.* — L'épidémie de conjugaison s'annonce toujours par la fonction de deux, plus rarement trois ou quatre paramœcies qui nagent quelques instants accolées Au bout de quelques instants deux d'entre elles seulement se conjuguent réellement. L'accolement commence par l'extrémité antérieure. La réunion effective, celle qui met en communication les deux plasmas et permet l'échange des éléments nucléaires est constituée par un pont plasmatique qui part du côté droit d'un individu pour aller du côté droit de l'autre.

La formation des deux ouvertures buccales dans l'individu qui vient de se séparer après la conjugaison *a lieu par la division de bouche primitive* et non par formation indépendante d'une deuxième bouche au-dessous de la première. La bande striée signalée plus haut s'allonge et se divise.

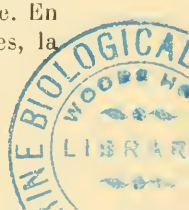
III. — *Sur les changements du noyau et du nucléole pendant la conjugaison.* — Il nous est impossible de suivre ici l'auteur dans le détail de la conjugaison d'autant plus que son travail paru presqu'en même temps que celui de Maupas contient des observations à peu près identiques quant au fond même du phénomène, division des nucléoles en deux, puis en quatre et en huit ; régression des fragments nucléolaires dont il ne reste qu'un dans chaque individu ; division nouvelle de ce fragment ; échange et copulation de deux fragments; formation du noyau et du nucléole aux dépens de ces fragments.

IV et V. — *Division des Paramœcies et remarques sur la conjugaison des Infusoires.* — Nous avons déjà signalé l'observation de la bouche des Paramœcies pendant la division. L'auteur, dans la quatrième partie, la reprend en détail.

F. D.

Professeur K.-B. Lehmann. — **Études sur le bactérium phosphorescens Fischer** (*Centralbl. für Bacteriol. u. Parasit.*, V, 785).

On sait qu'il existe toute une classe de microbes phosphorescents qui ont déjà fait le sujet de différents travaux; M. Duclaux les a excellemment résumés dans le tome premier des *Annales de l'Institut Pasteur* (p. 485). Dans le présent mémoire, le professeur Lehmann expose le résultat des recherches qu'il a entreprises en collaboration avec M. Tollhausen au sujet d'un de ces microbes. *Pact. phosphorescens Fischer;* ce microorganisme croît bien sur la gélatine, la gélose, dans le lait, le bouillon, sur la viande crue ou cuite, sur des poissons crus et sur des pommes de terre. L'adjonction de 3 p. 100 de chlorure de sodium favorise sa croissance. En général, tout ce que l'auteur a observé au sujet des cultures, la



forme des bactéries, etc., concorde absolument avec la description donnée par M. Fischer ; aussi, a-t-il porté son attention principalement sur le phénomène de la phosphorescence. Sa condition essentielle est la présence de l'oxygène. Ainsi, les parties profondes des cultures en piqûres ne sont pas lumineuses ; l'hydrogène, l'acide carbonique, etc., en chassant l'oxygène, font aussi disparaître la phosphorescence, qui réapparaît dès que l'oxygène a de nouveau accès. Toutefois, ce bacterium vit et croît parfaitement à l'abri de l'air ; seulement, il ne donne plus aucune lumière. Il en est souvent de même quand on le cultive sur des *substrata* pauvres. L'étude de ces phénomènes soulève la question de savoir s'ils sont intracellulaires ou extracellulaires, c'est-à-dire si le microbe produit la lumière directement, ou seulement indirectement, par la formation d'une matière photogène qui, en se combinant avec l'oxygène, produirait la phosphorescence. L'auteur se prononce pour la première hypothèse, pour les raisons suivantes : d'abord, les bouillons de cultures filtrés ne sont pas phosphorescents. Ceci indiquerait que ce sont les microbes eux-mêmes, que le filtre retient, qui produisent la lumière, à moins d'admettre que la matière photogène supposée ne soit elle-même retenue par le filtre. Ensuite, tous les corps qui tuent les bactéries détruisent aussi la phosphorescence ; ainsi, le sublimé, les acides borique, salicylique et phénique. Le résultat est le même quand on se sert d'agents moins énergiques et qui sembleraient devoir être sans action sur une matière photogène, tels que le chloroforme, l'éther, les alcools éthylique et amylique, le benzol, le xylol, le sulfure de carbone, les essences d'œillets et de bergamotte. Ajoutés à la dose de 1/2-1 cmc. à 10-15 cmc. de cultures de bouillon salé en pleine phosphorescence, celle-ci disparaît de suite, ou du moins en peu de minutes, et les inoculations faites ensuite sur de la gélatine fraîche restent stériles. Le phénomène de la phosphorescence semble donc intimement lié à la vie du microbe. Enfin, les expériences sur l'action de la température parlent également en faveur de la théorie intracellulaire. La meilleure température est celle de 24°. A 39°5, la phosphorescence s'éteint, mais le refroidissement la fait renaître, et les cultures exposées pendant quelque temps à 45° ne donnent définitivement plus aucune lumière. Si la phosphorescence était due à une matière photogène, celle-ci devrait être bien délicate et d'une nature toute spéciale, puisqu'elle ne pourrait pas supporter une température de 40°. Si le *Bacterium phosphorescens* est très sensible à la chaleur, il résiste, par contre, beaucoup mieux au froid. Il croît, en effet, à 0°, et des cultures sur gélose dont on abaisse la température à 12° au dessous de zéro, donnent encore pendant 10-12 minutes des traces de lumière. En se servant de l'expression intracellulaire, M. Lehmann n'entend, naturellement, pas exclure la possibilité que les phéno-

mènes lumineux ne se produisent qu'à la surface des cellules bactériennes ; c'est là une question, que la petitesse des objets ne permet guère de résoudre.

Les auteurs ont encore essayé l'action de quelques alcaloïdes sur ce microorganisme ; elle s'est trouvée être faible. Ajoutée en solution à 1 p. 100 à volume égal aux cultures de bouillon, la morphine n'a produit aucun effet ; la strychnine a laissé la phosphorescence intacte pendant 2 jours et n'a amené son extinction qu'après 4 jours ; la quinine ne produit aucun effet au bout d'une heure ; après 24 heures, cependant, la phosphorescence disparaît ; la caféine et la saponine ne l'abolissent pas, même après 3 jours. Le *Bact. phosphor.* est dépourvu de toute action pathogène sur les lapins et les chats. M. Tallhausen avala même, trois jours de suite, jusqu'à 25 cmc. du bouillon de culture sans en être le moins du monde incommodé.

E. F.

Dr S. Kitasato. — **De la résistance des bactéries du choléra à la dessication et à la chaleur** (*Zeitschrift für Hygiene*, V, 1, p. 136).

Les expérimentateurs sont, en général, d'accord sur le peu de résistance que les spirilles du choléra offrent à la dessication et à la chaleur. Ce fait avait déjà été remarqué par M. Koch, qui a constamment observé, dans ses expériences, que ces spirilles, desséchés pendant 3 heures et quelquefois moins, avaient perdu toute faculté de revivre. Ces faits semblent exclure la présence de véritables spores ; cependant, quelques savants (van Ermengem, Hueppe) ont été conduits par leurs recherches à en admettre l'existence. M. Kitasato a cherché, par de nouvelles expériences, à apporter quelque lumière dans ces faits, et il a examiné, en particulier, si les contradictions qui existent entre les auteurs pourraient s'expliquer par des différences qui existeraient dans le degré de résistance que possèdent les cultures de choléra, selon qu'elles sont plus ou moins vieilles ou qu'elles ont été faites sur tel ou tel milieu nutritif. Pour cela, M. Kitasato trempait des fils de soie dans les cultures, ou étalait une gouttelette de celles-ci sur une lame de verre ; les fils et les lamelles étaient desséchés, les uns dans un dessicateur sur de l'acide sulfurique, les autres dans des boîtes de verre stérilisées, et abandonnés à la température de la chambre ; quelques-uns enfin étaient maintenus en chambre humide à titre de contrôle. D'heure en heure, quelques fils et couvre-objets étaient prélevés et ensemencés dans du bouillon et de la gélatine. Pour étudier la résistance des différentes cultures à la chaleur, une gouttelette était mélangée à de la gélatine liquide et tenue à la température voulue

dans un bain d'eau ; la gélatine servait ensuite à faire des plaques d'Esmarch. M. Kitasato résume ses expériences dans les conclusions suivante :

1° Il n'existe entre les cultures vieilles et les cultures fraîches de la bactérie du choléra aucune différence quant à leur degré de résistance à la dessication et à la chaleur.

2° La durée du temps nécessaire pour amener la mort des bactéries du choléra par dessication dépend de la façon dont le matériel a été préparé. Ainsi, des fils de soie contenant une couche plus épaisse de bactéries sont plus résistants que les lamelles sur lesquelles les cultures ont été étendues en couche très mince.

3° La nature même des cultures exerce à cet égard une influence considérable. Ainsi, les pellicules qui se forment à la surface du bouillon, de même que les cultures épaisses et visqueuses qui se développent sur la gélose et les pommes de terre, restent plus longtemps vivantes que le bouillon liquide. Les fils desséchés sur l'acide sulfurique sont aussi plus résistants que ceux desséchés à l'air libre Ceci s'explique par le fait que, dans le premier cas, les couches superficielles sèchent plus rapidement et protègent alors jusqu'à un certain point les couches internes contre la dessication.

4° Les diverses cultures de choléra n'ont pas montré de différences appréciables à l'égard des températures variant entre 50 et 60°.

5° Les contradictions que l'on rencontre dans les indications des différents auteurs au sujet de la résistance qu'opposent à la dessication les bactéries du choléra, s'expliquent aisément par des différences dans la façon dont la dessication a été opérée; plus celle-ci est rapide et complète, plus vite meurent les bactéries.

Dans les expériences de M. Kitasato, les fils trempés dans des cultures liquides restaient souvent stériles après 3 heures de dessication ; d'autres fois, cependant, ils résistèrent 2 et 3 jours. Les fils imprégnés de cultures sur gélose et gélatine résistèrent toujours au moins 24 heures ; dans un cas, on les vit résister même 13 jours.

La température de 50° devient souvent fatale au bout de 15 minutes, et aucun spirille ne résiste 10 minutes à celle de 60°.

M. Kitasato fit encore quelques expériences sur les granulations que l'on rencontre en grand nombre dans les vieilles cultures de choléra, et que quelques savants ont considérées comme des spores. M. Kitasato ne les a jamais vues donner naissance à des êtres adultes; il en conclut qu'elles ne jouent aucun rôle dans la germination des bacilles. E. F.

Auguste Ducrey. — **Recherches expérimentales sur la matière infectieuse du chancre mou et sur les bubons** (*Monatshefte für prakt. Dermatologie*, IX, n° 9).

En présence des insuccès constants auxquels on se heurte lorsqu'on cherche à reproduire expérimentalement le chancre mou par l'inoculation des cultures pures des microbes que l'on a isolés du pus spécifique, l'auteur a cherché d'abord à purifier ce dernier par des inoculations successives sur son terrain naturel, c'est-à-dire la peau humaine en le débarrassant peu à peu des microbes qui s'y trouvent fortuitement ; déjà au bout d'une génération le nombre des microorganismes trouvés dans le pus initial diminue, et au bout de 5 à 6 générations, M. Ducrey réussit à obtenir un pus encore virulent, mais ne donnant plus de cultures quoiqu'il eût été cultivé sur les milieux les plus variés tant en présence qu'à l'abri de l'air. Cependant ce pus contenait constamment un bactérium long de 1,48 μ et large de 0,50 μ, à bouts arrondis. Ce microorganisme se rencontre par groupe, par deux ou isolé, de préférence dans les espaces intercellulaires, quelquefois aussi dans le protaplasma des corpuscules de pus. Il se colore très bien avec la fuchsine, mais ne supporte pas la méthode de Gram. L'inoculation du pus aux lapins et cobayes reste sans effet.

L'auteur conclut de ses recherches :

1° Le chancre mou doit son infectiosité à un élément organisé et spécifique ;

2° Ce virus n'a pas encore été cultivé, car isolé sur l'homme il est représenté par un microorganisme qui ne se développe pas dans les milieux nutritifs usuels ;

3° Les microorganismes, donnés par certains auteurs comme la cause du chancre mou, doivent être considérés comme des hôtes fortuits du pus, ainsi que le prouve la facilité avec laquelle on peut les cultiver.

Dans 50 cas de bubons enfin, l'auteur ne rencontra aucun microorganisme.

E. F.

Dr G. Gasperini. — **Le beurre naturel considéré comme moyen de transmission de la tuberculose** (Milan, G. Civelli).

Ainsi que le titre de son mémoire le dit, l'auteur étudie le danger que constitue le beurre au point de vue de la transmission de la tuberculose. Le sujet a déjà été traité par M. L. Heim en particulier, mais l'importance du sujet justifie pleinement les recherches que M. Gasperini lui a consacrées de son côté. Le beurre était fait avec du lait auquel il ajoutait des cultures du bacille de Koch. D'une façon générale, il résulte des expériences de M. Gasperini, que les bacilles contenus dans le lait passent dans le beurre et qu'ils

peuvent conserver leur virulence dans ce dernier pendant un temps fort long, ainsi que le prouvent les inoculations faites sur des cobayes. Il a, en effet, constaté la virulence du beurre encore 120 jours après ; cependant au bout d'un mois, la virulence s'atténue d'habitude et les animaux résistent d'ordinaire plus longtemps. Dans la pratique toutefois cette atténuation ne fera guère sentir ses effets, le beurre étant de préférence consommé à l'état frais ; il eût été intéressant, nous semble-t-il, de rechercher si la salaison du beurre à laquelle on a recours dans différents pays, exerce une action quelconque sur la durée de la vie du bacille tuberculeux dans ce milieu. E. F.

Dr med. Franz Nissen. — **Sur l'action désinfectante de la chaux chlorée** (*Zeitschrift für Hygiene,* VIII, p. 62).

Les propriétés désinfectantes de la chaux sont déjà connues par plusieurs travaux, entre autres par le mémoire intéressant publié dans le septième numéro de ces *Annales* (p. 305) par M. le Dr de Giaxa. Dans le présent travail M. Nissen étudie plus particulièrement l'action de la chaux chlorée composée, on le sait, d'hydroxide de chaux ($Ca(OH)^2$), de chloride de calcium ($CaCl^2$), et d'hypochlorite de calcium ($Ca(ClO)^2$). Avec de l'eau, la chaux chlorée donne une bouillie ; c'est sous cette forme, à des degrés variés de concentration que l'a étudiée l'auteur pour déterminer son action microbicide. A cet effet, il mélangeait à parties égales une culture de bouillon d'un microorganisme pathogène avec une émulsion du désinfectant de concentration connue et inoculait une anse de platine du mélange dans du bouillon après 1, 5, 10, 15 minutes, etc. Il est bon toutefois de diluer les cultures de bouillon dans 4 à 5 fois leur volume d'eau stérilisée distillée pour éviter la formation d'un précipité volumineux.

Voici les résultats obtenus:

Le *Bacille typhique* est tué sûrement quand la concentration du mélange n'est pas au-dessous de 0,12 p. 100; une concentration plus forte le tue déjà en une minute.

Les *Bacilles du choléra* sont souvent tués en une minute par la concentration de 0,12 p. 100. Après 5 minutes leur destruction est certaine. Le degré de concentration nécessaire, d'après Liborius et Kitasato, pour tuer ces deux microorganismes par l'emploi de la chaux caustique est à peu près le même, seulement ce dernier désinfectant n'agit qu'après une ou plusieurs heures.

Le *Bacille du charbon* est entièrement détruit en une minute par une concentration de 0, 1 p. 100.

Avec une concentration de 0,2 p. 100, une minute suffit également pour tuer le *Staph. pyogenes aureus* et le *Streptococcus erysypelatis.*

Les *spores du charbon* sont naturellement plus résistantes. Toutefois, des spores supportant la vapeur de 100° pendant 10 minutes et le sublimé acide à 1 p. 1000 pendant 4 heures sont tuées en 4 1/2 heures par une concentration du mélange à 5 p. 100.

Dans une autre série de recherches, M. Nissen s'est occupé de trouver le degré de concentration nécessaire pour désinfecter des matières putrides ou fécales. Ainsi du bouillon putride auquel on ajoute 0,1 p. 100 de chaux chlorée est sûrement stérilisé en 5 minutes, généralement même après 1 minute. L'action désodorante se fait sentir après quelques secondes déjà.

En ce qui concerne les matière fécales, M. Nissen a seulement recherché la quantité nécessaire du désinfectant pour y tuer les microbes du choléra et du typhus, jugeant qu'une désinfection s'étendant aux germes vulgaires, souvent très résistants, contenus dans les fèces n'est pas exigée par l'hygiène qui se déclare satisfaite du moment où les matières fécales ne contiennent plus de germes typhiques ou cholériques. Comme il eût été très difficile de reconnaître avec quelle dose précise du désinfectant les colonies typhiques ou cholériques cessent d'apparaître sur les plaques au milieu des colonies de germes vulgaires, l'auteur commençait par stériliser — en partie à 57 degrés par stérilisation fractionnée afin d'éviter que l'albumine contenue dans les matières fécales ne se coagulât et que leur consistance n'en fût par cela altérée — les fèces (provenant d'un cas de dysenterie) et les inoculait ensuite avec des cultures typhiques ou cholériques. Ces dernières toutefois crurent mal dans ce milieu et ne servirent pas aux expériences. Il ajoutait alors de la chaux chlorée soit en poudre, soit sous forme liquide et agitait pendant 2 minutes avec un morceau de bois stérilisé. Il résulte de ces expériences, que la chaux chlorée ajoutée aux selles diarrhéiques dans la proportion de 0,5 p. 100 (en poudre ou en liquide) y tue les bacilles typhiques et probablement aussi les germes cholériques qui sont en général moins résistants, en 10 minutes. Dans ces conditions la chaux vive ne désinfecte d'après M. Pfuhl qu'en une heure. La chaux chlorée peut donc être considérée comme un excellent désinfectant qui trouvera son utile emploi dans les hôpitaux surtout, où une désinfection rapide des selles est souvent nécessaire. La chaux chlorée doit être conservée dans des bouteilles de couleur sombre et bien fermées.

E. F.

Dr Hans Leo. — **Contribution à l'étude de l'immunité** (*Zeitschrift fur Hygiene*, VII, p. 505).

Partant du fait que certaines affections, comme le diabète, prédisposent, peut-être par les modifications chimiques qu'elles ap-

portent au terrain de culture, aux infections microbiennes, M. Leo s'est demandé si l'on ne pourrait pas détruire l'immunité dont quelques espèces animales jouissent à l'égard de diverses maladies en créant chez elles par exemple un diabète artificiel. Pour obtenir ceci il s'est adressé à la phlorizine qui d'après les expériences de M. von Mering provoque la sécrétion du sucre chez les chiens. D'après M. Leo, ce glucoside produirait le même effet chez les souris, quoique d'une façon moins marquée. Un gramme de phlorizine était dissous dans de l'alcool dont on imprégnait des gâteaux (cakes). L'alcool une fois évaporé ces derniers servaient à nourrir une partie des animaux.

Une première série d'expériences porta sur le charbon et des rats dont l'immunité à l'égard de cette maladie est bien établie. Le résultat fut négatif, aucun des animaux ne contracta le charbon. L'inoculation sous-cutanée de la phorizine dans de l'eau ne donne pas de meilleurs effets.

Une seconde série d'expériences il s'adressa à la tuberculose en se servant de la souris domestique qui résiste à cette affection. Là aussi le résultat fut négatif, ce qui tient peut-être à ce que la tuberculose évoluant avec lenteur les souris moururent généralement d'intoxication dans la quinzaine avant que le virus tuberculeux eût eu le temps de produire ses effets. Au point d'inoculation M. Leo trouva, en effet, le plus souvent, une glande tuméfiée dans laquelle il réussit plusieurs fois à déceler la présence des bacilles de la tuberculose.

Les résultats furent au contraire plus encourageants avec la morve et les souris blanches qui ne contractent pas cette maladie. Ici toutes les souris de la série qui étaient nourries avec des gâteaux imprégnés de phlorizine moururent en 3-6 jours, avec des granulations dans le foie et la rate, et des bacilles de la morve dans ces organes Les souris témoins, au contraire, qui avaient été inoculées avec la morve, sans être mises au régime de la phlorizine résistèrent toutes. Celles qui avaient reçu de la phlorizine, sans inoculation de morve, moururent intoxiquées en 14-16 jours.

Rien ne prouve, toutefois, M. Leo le reconnaît lui-même, que ce soit la présence du sucre qui ait permis le développement des bacilles de la morve dans l'organisme des souris blanches. D'ailleurs, ainsi que l'auteur s'en est assuré, l'organisme de la souris des champs qui contracte très bien la morve n'est pas plus riche en sucre que celui de la souris blanche. Il se pourrait donc que cette disparition apparente de l'immunité soit simplement le résultat d'un affaiblissement de l'organisme par une intoxication.

E. F.

---

(1) *Geitschrift für klin. Medicin*, XIV, p. 405.

Dr Istyn Karlinski. — **Contribution statistique à la connaissance des agents pyogènes chez l'homme et les animaux** (*Centralbl. für Bakteriologie u. Parasitk.*, VII, p. 413).

L'auteur résume dans ce travail le résultat des recherches bactériologiques qu'il a pu faire dans un nombre très considérable de processus suppuratifs. Il y a trouvé en fait d'agents pyogènes (à l'état de pureté ou du moins en quantité prépondérante):

1° Le *Staph. pyog. aureus*, 82 fois;
2° Le *Streptoc. pyog.*, 45 fois;
3° Le *Staph. pyog. albus*, 55 fois;
4° Le *Staph. pyog. citreus* 7, fois;
5° Le *Microc. tetragenus*, 6 fois;
6° Le *Bac. pyog. fœtidus*, 3 fois;
7° Le Bac. Friedlaender, 2 fois.

Le *Bac. pyog. fœtidus*, fut trouvé dans les 3 cas (2 abcès sous-cutanés et un abcès de la gencive) à l'état de pureté absolue, ce qui démontre qu'il n'est pas aussi inoffensif qu'on semble généralement le croire.

Dans des suppurations examinées chez des animaux, M. Karlinski trouva chez les mammifères :

1° Le *Staph. pyog. aureus*, 25 fois;
2° Le — *albus*, 15 fois;
3° Le — *citreus*, 5 fois;
4° Le *Streptoc. pyog.*, 23 fois;
5° Le *Microc. tetragenus*, 9 fois;
6° Le *Bac. pyog. fœtidus*, 4 fois;
7° Le Bac. de la Morve, 2 fois.

Chez les oiseaux le résultat statistique fut le suivant:

1° Le *Staph. pyog. aureus*, 15 fois;
2° Le — *albus*, 11 fois;
3° Le — *citreus*, 14 fois;
4° Le *Microc. tetragenus*, 10 fois;
5° Le *Streptoc. pyog.*, 11 fois;
6° Le *Bac. pyog. fœtidus*, 10 fois.

E. F.

Dr S. Kitasato. — **La réaction négative de l'indol des bacilles du typhus, comparée à celles d'autres bacilles analogues** (*Zeischrift für Hygiene*, VII, p. 515).

On connaît la difficulté que les expérimentateurs éprouvent souvent à différencier les cultures typhiques de celles d'autres microorganismes qui leur ressemblent à beaucoup d'égards. La question a cependant une grande importance pour l'hygiène, et il

serait désirable, dans le cas par exemple d'une eau suspecte hébergeant des germes typhiques, d'arriver à discerner en peu de temps les colonies du bacille d'Eberth. Jusqu'ici, on se servait comme critère de la pomme de terre, sur laquelle, on le sait, le bacille typhique donne des cultures presque invisibles à l'œil. Malheureusement pour le diagnostic on a maintenant découvert plusieurs bacilles croissant de la même façon sur ce milieu, et ce n'est qu'en étudiant soigneusement tous les caractères d'une culture dans les milieux les plus divers qu'on arrive, souvent avec des peines infinies, à un résultat certain.

M. Kitasato s'est donné la tâche de chercher un critère sûr des cultures typhiques. Après avoir isolé de l'eau, du sol et des fèces 16 bactéries dont l'aspect des colonies sur plaques de gélatine, ressemble à celui des colonies typhiques, il a recherché d'abord si le bacille typhique résiste mieux à l'action des acides et des alcalis que les autres. Le résultat a été négatif, dans ce sens qu'ils ont résisté moins ou juste autant. M. Kitasato ne peut pas en particulier confirmer les recherches de MM. Chantemesse et Widal qui avaient réussi à isoler facilement le bacille typhique en ajoutant 0,2 d'acide phénique à la gélatine. D'après M. Kitasato les bacilles des fèces seraient plus résistants à l'action de l'acide phénique que le bacille d'Eberth, et certains bacilles de l'eau seraient doués d'un pouvoir de résistance égal. En chauffant ces cultures à des degrés divers, M. Kitasato n'arriva pas à un meilleur résultat. A l'abri de l'air, il les vit se développer aussi bien que les autres bacilles. En employant, au contraire, le procédé de Salkowsky relatif à la réaction rouge des bacilles cholériques, l'auteur arriva à un résultat intéressant. Seules les cultures typhiques demeurèrent incolores, tandis que les 16 autres bactéries donnaient une coloration rose-rouge. Voici ce procédé. A 10 centimètres cubes d'une culture de bouillon peptonisé et alcalin des bactéries que l'on veut étudier, tenue pendant 24 heures à l'étuve, on ajoute 1 centimètre cube d'une dissolution de nitrite de potassium pur, contenant 0,02 p. 100 centimètres cubes et ensuite quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. S'il y a de l'indol, comme dans les cultures cholériques, le bouillon se colore en rose ou en rouge foncé. L'examen chimique de cultures typhiques montra en effet, qu'elles ne contiennent ni indol, ni scatol. Cette réaction négative n'appartient pas seulement aux bacilles typhiques, mais encore aux microorganismes suivants : bac. de la septicémie des souris, du rouget, de la peste porcine, du charbon, de Friedlaender, de Fränkel (pneumonie), de la diphtérite, de Ribbert, *tetragenus*, *Streptococcus erysipel.*, bac. du pus vert, *Staph. aureus*, *citreus* et *albus*, *Bac. fluorescens*, bac. blanc, bac. violet, bac. phosphorescent, bacille du lait visqueux, bac. du lait bleu, bac. butyrique, Wurzelbacillus des Allemands, *Bac. megaterium*, *spirilles* de Miller, *Spir. concentricum*,

sarcines jaune-orange et blanche, *Oïdium lactis*. La liste en est longue: on le voit, mais comme les colonies de ces microorganismes sont faciles à distinguer de celles du typhus, la chose est sans importance. Les microorganismes suivants donnent au contraire la réaction positive : bac. du choléra, bac. du choléra des poules, de la septicémie des lapins, de la pneumocentérite des pores, de la diphtérite des pigeons, du tétanos, du charbon symptomatique, de l'œdème malin, spirilles de Finkler, de Deneke, bac. de Brieger, d'Emmerich, de la fermentation lactique et les 16 bacilles semblables à celui du typhus que M. Kitasato avait isolé. A part ces derniers, le seul qui donne sur plaques de gélatine des colonies ressemblant à celles du typhus est le bac. de la fermentation lactique. Dans le cas où le lait serait suspecté comme source possible de contamination, cette réaction donnera donc d'utiles indications. M. Kitasato ajoute toutefois, ce qui ôte une grande partie de l'importance des faits constatés par lui, que les 16 bactéries qu'il avait isolées et étudiées croissaient autrement sur la pomme de terre que le bacille typhique. Or, ceci seul aurait suffi pour les différencier et nous aurions surtout intérêt à savoir qu'elle réaction donnent à l'égard de l'indol les bacilles qui croissent sur la pomme de terre absolument comme les bacilles typhiques. Tant que l'on ne nous aura pas dit que ceux-ci donnent la réaction rouge, le critère trouvé par M. Kitasato ne nous tire pas plus d'embarras que les cultures sur tranches de pomme de terre.

E. F.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel-de-Ville), *Mars* 1890

DESIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
			TEMPÉRAT.	PLUIE	VENT			
	BACTÉRIES	MOISISSURES	moyenne	Hauteur en millimèt.	Direction moyenne	Force moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 10, du 2 Mars au 8 Mars 1890 . .	7.160	1.170	2° 3	3mm,1	var.	17km 4	165	267
N° 11, du 9 » au 15 » » . .	3.330	1.000	8 ,7	4 ,4	S.W	11 8	154	222
N° 12, du 16 » au 22 » » . .	2.670	1.000	7 ,9	14 ,4	S.W	11 0	162	175
N° 13, du 23 » au 29 » » . .	3.670	500	10 ,8	6 ,8	S.W	15 3	181	205
»	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	4.210	920	7°,4	28mm,7	S.W	13,8	662	869
ANNÉE MOYENNE	4.520	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques*, sont comprises: les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aigües des poumons (Bronchite aigüe, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts

Mars 1890. Bactéries = » Moisissures = » Température = »

Analyses diverses (. . . . .)

Mars 1890. Bactéries = » Moisissures = » Température = »

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Mars* 1890

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Mars 1890	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	1.320	705	»	Canalis. = 3.300 bactéries
» de la Dhuis à Ménilmontant.	3.160	1.890	»	Canalis. = 4.700 »
»	»	»	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	55.000	28.650	6°,1	»
» de la Seine à Ivry	36 000	27.340	6°,6	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz . . .	68.000	31.060	»	Hauteur = 1,02
» de la Seine au pont de l'Alma	160.000	77.525	»	»
» de la Loire en amont de Nantes. . . .	9.530	»	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	49.500	36.190	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits de la rue de Flandres	20.000	»	»	»
Puit Poissons (à Gennevilliers).	10.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Eau du drain de Saint-Maur	»	2.110	»	»
Puits de sable de la Loire	73	»	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	11.500.000	13.315.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est	240.000.000	19.440.000	»	»
» » traitée à Bondy.	1.500	74.250	»	»

BIBLIOGRAPHIE

V. Bonnet. — **Précis d'analyse microscopique des denrées alimentaires.** (Un vol. cart., 200 p., avec 88 fig. et XX planches en couleur. 1890, J.-B. Baillière et fils, éditeurs.)

M. Léon Guignard, professeur de l'École supérieure de pharmacie de Paris, a fait si excellemment ressortir dans une préface écrite pour le livre de M. V. Bonnet, les qualités et les avantages que possède ce nouveau précis, qu'on nous saura gré de reproduire intégralement les quelques lignes dans lesquelles ce savant professeur le présente au public studieux et aux analystes.

« La chimie, malgré ses ressources, est fréquemment impuissante, sinon à déceler l'existence d'une falsification, tout au moins à en indiquer la nature. Le falsificateur est d'ailleurs souvent doublé d'un chimiste ; il est plus rare qu'il soit familiarisé avec l'observation au microscope, et, fût-il dans ce cas, son habileté ne saurait aller jusqu'à pouvoir changer les caractères morphologiques des subtances employées à la falsification au point de les rendre méconnaissables. Aussi bien, le microscope restera-t-il toujours l'instrument par excellence dans ce genre de recherches.

« Indiquer avec méthode et concision les caractères microscopiques des principales substances alimentaires et les impuretés qu'elles peuvent renfermer, tel est le but que s'est proposé M. Bonnet. Préparateur et dessinateur au laboratoire de micrographie de l'École de pharmacie de Paris, il a eu souvent l'occasion de faire sur ce sujet des recherches personnelles. En joignant aux connaissances du micrographe une habileté spéciale à reproduire par le dessin les éléments variés soumis à l'examen microscopique, il a pu réunir dans un livre, très modeste d'apparence, des données nombreuses et précises.

« Son précis s'adresse à la fois aux pharmaciens, qui laissent trop souvent échapper des analyses qui sont de leur ressort, aux membres des conseils d'hygiène, qui sont appelés à donner leur avis sur la composition des denrées alimentaires, aux chimistes, qui doivent faire marcher de pair l'analyse purement chimique et l'observation microscopique, et à tous ceux qui sont appelés par leur situation à vérifier la pureté de ces produits.

« Il n'est d'ailleurs pas besoin, dans la plupart des cas, d'être

un micrographe consommé pour arriver au but, bien que ce genre d'observation suppose au préalable la connaissance des notions d'histologie végétale ou animale, indispensables pour reconnaître la nature d'un tissu et celle des éléments qu'il renferme; l'essentiel est de se familiariser avec un certain nombre de réactifs.

« Après avoir indiqué d'une façon générale les méthodes d'un emploi courant, l'auteur expose la technique nécessaire pour chaque cas particulier. Il passe successivement en revue les substances les plus usitées dans l'alimentation journalière, en rappelant d'abord leur origine et leurs caractères normaux; il décrit ensuite chacune des falsifications que le microscope permet de déceler.

« Si la plupart de ces détails se rencontrent dans les ouvrages qui traitent de ces sujets, il est rare d'y trouver des figures suffisamment exactes. Et pourtant la précision du dessin est ici de rigueur, car on a souvent à distinguer les uns des autres des éléments voisins par la forme et la structure.

« Pour rendre cette distinction plus facile, M. Bonnet a eu l'heureuse idée de représenter ces éléments avec leur couleur naturelle. Grâce aux 20 planches qui accompagnent le texte, on peut saisir du premier coup d'œil l'aspect que présentent les différentes parties constitutives d'une feuille, d'une écorce, d'une tige, d'un fruit, etc., et reconnaître ensuite rapidement les éléments de ces parties dans une poudre complexe. Ces dessins avec couleur sont le portrait fidèle et complet des objets vus au microscope.

« A ce titre surtout, le livre de M. Bonnet se recommande à toutes les personnes qui ont à s'occuper de ces questions. »

PUBLICATIONS RÉCENTES

BACTÉRIOLOGIE

L. Megnin. — Sur une phtisie bactérienne du lièvre (*Revue des sciences nat. appliquées*, t. XXXVII, nos 4 et 5, fév. 1890).

D. Vobroklouski. — Pénétration des bacilles tuberculeux dans l'organisme à travers la muqueuse intestinale et développement de la tuberculose expérimentale (*Arch. de méd. exp. et d'anat. pathologique*, t. II, mars 1890).

E. Metchnikoff. — Étude sur l'immunité (3e mémoire) (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 194).

S. Winogradsky. — Recherches sur les organismes de la nitrification (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 213.)

Wagner K. E. — De l'action de quelques substances médicinales sur la croissance des cultures du bacille de la tuberculose (Wratsch, 1889, n° 42, en russe),

O. Bütschli. — Ueber den Bau der Bakterien und verwadater Organismen. Sur la structure des bactéries et autres organismes analogues (Conférence faite le 6 décembre 1889 à la Société d'histoire naturelle et de médecine à Heidelberg).

S. Kitasato u. Th. Weyl. — Zur Kenntniss der Anaëroben. Contribution à la connaissance des anaérobies (*Zeitschrift für Hygiene*, VIII, p. 41).

Dr M. Kirchner. — Untersuchungen ueber Influenza. Recherches sur l'influenza (*Centrabl. für Bakteriol. und Parasitenkunde*, VII, p. 361).

Prof. Th. Kitt. — Ueber Tetanusimpfungen bei Hausthieren. Des inoculations de tétanos sur les animaux domestiques (*Centralbl. für Bakteriol. u. Parasitenkunde*, VII, p. 297).

H. van Laer. — Notes sur les fermentations visqueuses (Extrait des mémoires couronnés et autres mémoires publiés par l'Académie royale de Belgique, XLIII, 1889).

Hugo Davidsohn. — Die Benutzung des Koch'schen Dampfapparates für die Sterilisirung von Verbandstoffen. L'emploi de l'appareil à vapeur de Koch pour la stérilisation des pièces de pansements (*Berliner Klin. Wochenschrift*, 1889, n° 44).

Prof. V. Babès. — Untersuchungen über den Diphteriebacillus u. die experimentelle Diphterie. Recherches sur le bacille de la diphtérie et la diphtérie expérimentale (*Virchow's Archiv* , 119, 3, p. 460).

W. M. Fuotin. — Bakteriologische Untersuchungen von Hagel. Recherches bactériologiques sur la grêle (*Wratsch*, en russe, n° 49 et 50).

Daehle. — Beobachtungen über einen Antagonisten des Milzbrandes. Observations sur un antagoniste du charbon (Thèse, Kiel, 1889).

Dr F. Pleim. — Beitrag zur Lehre von der Malaria infection. Contribution à la connaissance de l'infection paludéenne (*Zeitschrift für Hygiene*, VIII, p. 78).

Gr D. Mandry. — Zur Kenntniss des Friedländerschen Bacillus und einer Abart desselben. Contribution à la connaissance du bacille de Friedländer et d'une variété de ce microorganisme (*Fortschritte der Medicin*, VIII, p. 207).

A. P. Fokker. — Ueber die bacterienvernichtenden Eigenschaften der Milch. Sur les propriétés bactéricides du lait (*Forschritte der Medicin*, VIII, p. 7).

Dr F. Voswinkel. — Ueber Bakterienvernichtung im Froschkörper. Sur la destruction des bactéries dans le corps de la grenouille (*Fortschritte der Medicin*, VIII, p. 9).

E. Klein. — Ein fernerer Beitrag zur Kenntniss des Bacillus der Grouse-disease. Nouvelle contribution à la connaissance du bacille de la maladie des grouses (*Centralbl. für Bakteriol. u. Parasitenk.*, VII, p. 81).

Theodor Lewek. — Ueber den Wachsthumseinfluss nicht pathogener Spaltpilze auf pathogene. Sur l'action que quelques bactéries non pathogènes exercent sur la croissance de bactéries pathogènes (*Zieglers Beiträge zur pathol. Anatomie und zur allgemeinen Pathologie*, VI, 3).

L. Adametz. — Ueber einen Erreger der schleimigen Milch. Sur un microorganisme cause du lait visqueux (*Bacillus lactis viscosus*) (Milchzeitung, 1889, p. 941).

A. Celli et G. Guarnieri. — Sulla etiologia dell'infezione malarica. Sur l'etiologie de l'infection paludéenne (*Archivio per le scienze mediche*, XIII, p. 307).

Dr Pietro Canalis. — Studi sulla infezione malarica. Études sur l'infection paludéenne (Turin, Vincenzo, Bona).

Prof. Livio Vincenzi. — Su di un nuovo streptococco patogeno. Sur un nouveau streptococcus pathogène (*Archivio per le scienze mediche*, XIII, p. 405).

Salkolwski. — Ueber Zuckerbildung und andere Fermentationen in der Hefe. Sur la production du sucre et autres fermentations dans la levure (*Zeitschrift f. physiol. Chemie*, XIII, 6).

G. Tizzoni et S. Giovanni. — Bakteriologische u. experimentelle Untersuchungen über die Entstehung der hämorrhagischen Infection. Recherches bactériologiques et expérimentales sur l'origine de l'infection hémorrhagique (*Ziegler Beiträge zur pathol. Anatomie et zur allgem. Pathologie*, VI, 3.)

ERRATA

Le Mémoire contenu dans le n° 6 : *Sur le rôle des Bactéries dans la maturation du fromage de l'Emmenthal*, contient les fautes d'impression suivantes :

P. 257, ligne 1, *lire* : « I. Historique », au lieu de « Historique et rôle physiologique du bacillus, etc. »
P. 270, ligne 7, *lire* : « II. Morphologie et rôle physiologique du bacillus, etc. »
P. 270, ligne 5 d'en bas à la fin, *lire* : « et un peu moins *large*. »
P. 280, ligne 11, *lire* : « Caséine + albumine, 3.72, au lieu de 2.72. »
P. 282, ligne 9, *lire* : « le bacille est, etc..... »

L'Éditeur-Gérant,
Georges CARRÉ.

Tours. — Imprimerie DESLIS FRÈRES

ANNALES

DE MICROGRAPHIE

ÉTUDE SUR LE LOXODE

Par E. G. BALBIANI

De même que chez les Métazoaires, on trouve dans presque toutes les classes de Protozoaires de ces types qui, tout en présentant des affinités incontestables avec quelques-uns de leurs congénères, offrent des particularités de structure qu'on ne retrouve que dans des formes éloignées ou qui n'ont même leurs analogues nulle part ailleurs dans la classe. Ces êtres ambigus font le désespoir du classificateur, mais le biologiste les étudie avec une préférence marquée, car il voit en eux des formes de passage, toujours si intéressantes, ou des espèces nouvelles en voie d'évolution.

La vaste classe des Ciliés, si riche en formes variées, présente un grand nombre de ces espèces incertaines. Une des plus remarquables est le Loxode (*Loxodes rostrum*), rangé par la plupart des auteurs, depuis Ehrenberg, dans la famille des Trachélides, considéré par Bütschli comme le type d'une sous-famille de ce groupe, celle des *Loxodina*, placé par Saville Kent parmi les Chlamydodontides, auprès des Chilodons, des Chlamydodons, etc., et élevé enfin par Diesing à la dignité de représentant d'une famille spéciale, celle des *Drepanostomea* (1).

Avant de justifier par la description détaillée de notre

(1) Du genre *Drepanostoma* d'Engelmann, qui n'est autre que le genre *Loxodes* d'Ehrenberg.

espèce les réflexions qui précèdent, donnons d'abord un aperçu historique des travaux dont le Loxode a été l'objet.

Les premiers observateurs, O.-F. Müller (1), Franz von Paula Schrank (2), et, à une époque plus rapprochée, Ehrenberg (3), Dujardin (4), Perty (5) eux-mêmes, n'avaient guère bien vu que la forme extérieure du Loxode, si remarquable par son extrémité antérieure recourbée en forme de crochet ou de bec arqué, ce qui lui a valu la dénomination spécifique (*Kolpoda rostrum*) que Müller lui avait donnée et que lui ont conservée la plupart de ses successeurs. Pour les autres caractères, notamment les détails d'organisation intérieure, leurs descriptions et leurs figures ne nous donnent que de vagues indications. Müller dit seulement que le corps est rempli de granulations noirâtres et renferme de cinq à sept globules plus gros qu'il suppose être des œufs. Il signale aussi la coloration jaunâtre des grands exemplaires, qui égalent dix fois la longueur des plus petits, lesquels se distinguent en outre des premiers par leur aspect grisâtre. Ces différences de taille et de coloration des divers individus du *L. rostrum* ont été confirmées par tous les observateurs subséquents.

La description de Schrank reproduit presque complètement celle de Müller avec ce détail en plus qu'on aperçoit partout par transparence des intestins vésiculeux, brunâtres, qui obscurcissent le corps par places. C'est comme une première et vague indication de la structure réticulaire et vacuolaire du plasma intérieur, décélée par les observations modernes.

C'est Ehrenberg qui créa le genre *Loxodes* pour notre espèce et quelques autres types de Ciliés, qui n'ont pas tardé à être successivement reportés dans d'autres divisions

---

(1) O.-F. Müller, *Vermium terrestr. et fluviatil. historia*, 1773, p. 46. — *Animalcula infusoria fluviatil. et marina*, 1786, p. 94, pl. XVIII, fig. 7-8.

(2) Franz von Paula Schrank, *Fauna Boica*, Bd. III, 2. Abth. p. 70, 1803.

(3) Ehrenberg, *Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen*, 1838, p. 324, *t.* XXXIV, *fig.* 1.

(4) Dujardin, *Histoire naturelle des Zoophytes. Infusoires*, 1841, p. 403, pl. XI, *fig.* 5.

(5) Perty, *Zur Kenntniss der kleinsten Lebensformen*, 1852, p. 152, *t.* VI, *fig* 6.

génériques, de sorte qu'aujourd'hui notre animalcule est demeuré le seul représentant bien authentique de ce genre. Ehrenberg lui-même n'ajouta pas beaucoup à nos connaissances de sa structure. Il mentionne pour la première fois la bouche, qu'il place à la base de la partie antérieure, recourbée en forme de fer de hache. Il a souvent vu, dit-il, à l'intérieur du corps, des Navicules, des Chlamydomonas et autres organismes ingérés, mais n'a jamais réussi à faire avaler de couleur à l'animal. Il a observé les œufs disposés sous forme de deux bandes des deux côtés du corps. Les grands comme les petits individus se reproduisent par division spontanée. On peut dire que le Loxode resta presque aussi peu connu après Ehrenberg qu'il l'était avant lui.

Nous pouvons en dire autant de Dujardin, qui eut en outre la malheureuse idée de changer le nom ehrenbergien de *Loxodes* en celui de *Pelecida*, pour appliquer le premier aux espèces qui forment actuellement le genre *Chilodon*, ce qui eut pour conséquence d'ajouter encore à la confusion de la synonymie du genre *Loxodes*, dans lequel on faisait ainsi rentrer des types qui n'ont rien de commun les uns avec les autres : des Paramécies (*Loxodes bursaria* Ehr.), des *Chilodon* (*Loxodes cucullulus*, etc. Duj.), et les véritables *Loxodes* (*Loxodes rostrum* Ehr.).

Sous son nouveau nom de *Pelecida rostrum* Duj., notre animalcule resta tout aussi peu connu que sous l'ancien. Dujardin parle de la bouche sans la décrire ni la figurer. Il eut, comme jadis Schrank, une vague idée de la réticulation de la substance intérieure du corps, en parlant des nombreuses vacuoles qui, outre les aliments, sont contenues dans celle-ci. Enfin il dépeint l'animal comme portant sur toute sa surface extérieure des cils vibratiles d'une extrême finesse, ce qui n'est pas exact, ainsi que nous le verrons.

A Dujardin succède Perty, qui maintient à notre espèce la dénomination de *Pelecida rostrum* qui lui avait été donnée par son prédécesseur. Perty ne paraît pas avoir été beaucoup plus heureux que Dujardin dans l'examen de la bouche. Il la décrit vaguement comme une bande recourbée, de couleur foncée, qui lui paraît formée d'une autre substance que le reste du corps. L'espèce se compose d'in-

dividus de grande taille, jusqu'à 1/3 de ligne, et d'individus de taille beaucoup plus petite (1/50e de ligne), entièrement hyalins et transparents. Sous le nom de *Pelecida costata*, il distingue comme une espèce spéciale des individus à côtes longitudinales, au nombre de deux à quatre, mais entièrement semblables pour le reste aux petits exemplaires du *P. rostrum*. Pendant la natation, ces animaux présentent le phénomène que Perty désigne sous le nom de *diastrophie*, c'est-à-dire la faculté de se diriger en présentant alternativement en avant tantôt la partie antérieure, tantôt la partie postérieure du corps. Cette propriété, que présentent aussi beaucoup d'autres Ciliés, est caractérisée par Perty comme un renversement polaire de l'organisme (1).

Avec l'année 1856, les études sur le Loxode entrent dans une voie plus fructueuse par la découverte de plusieurs des particularités les plus intéressantes de ce Cilié. Elles sont principalement dues à Johannes Müller et à ses élèves, Claparède, Lachmann et Lieberkühn. Müller lui-même découvrit les singuliers organes qui portent son nom, et qui présentent une si étrange ressemblance avec les vésicules auditives des Métazoaires inférieurs (2). Presque simultanément, Claparède et Lachmann (3), d'une part, Lieberkühn (4), de l'autre, reconnurent nettement la structure vésiculaire du plasma intérieur, déjà entrevue, comme nous l'avons indiqué, par quelques-uns de leurs plus anciens prédécesseurs. Suivant les idées que Claparède et Lachmann s'étaient formées de l'organisation des Ciliés, qu'ils rapprochaient des Vers turbellariés (5), ils interprétèrent cette réticulation intérieure comme un système intestinal ramifié, et, pour compléter cette ressemblance, ils admirent que les ramifications de cet intestin étaient limitées à l'extérieur par une membrane propre, qu'ils ne disent pas avoir

(1) Perty, *loc. cit.*, p. 122.

(2) Joh. Müller, Einige Beobachtungen an Infusorien. *Monatsbericht d. Berliner Akad.* 1856, p. 390.

(3) Claparède et Lachmann, *Études sur les Infusoires et les Rhizopodes*, 1re partie, 1858-1859, p. 339.

(4) Cité par Claparède et Lachmann, *ibid.*, p. 341.

(5) Claparède et Lachmann, *loc. cit.*, p. 61.

directement observée, mais dont l'admission leur paraît nécessaire pour expliquer comment les aliments restent renfermés dans l'intestin au lieu d'en sortir pour tomber dans les cavités qui séparent ses ramifications.

Les mêmes observateurs reconnurent aussi pour la première fois les noyaux multiples du Loxode, qu'ils décrivirent comme formant une rangée parallèle à celle des vésicules de Müller. La recherche de la vésicule contractile leur causa plus d'embarras. N'ayant pas réussi à l'apercevoir sous sa forme habituelle d'une vacuole sphérique bien délimitée, se contractant et se dilatant tour à tour d'une manière régulière, Claparède et Lachmann en vinrent à soupçonner qu'elle était remplacée par un système de vacuoles communiquantes, irrégulières, placées dans la partie postérieure du corps. Ils avaient vu des contractions dans ce système vacuolaire et ils en avaient conclu qu'il se déchargeait par là du liquide qu'il contenait, sans réussir à s'assurer si ce liquide était évacué à l'extérieur par un orifice particulier, ou s'il s'écoulait dans la partie antérieure du corps par des canaux invisibles.

Stein, dans son *Organismus*, ne s'est pas occupé de la description méthodique des espèces composant son ordre des Ciliés holotriches, dans lequel il rangeait le genre *Loxodes*, mais nous trouvons çà et là dans les généralités de l'ouvrage les vues qu'il s'était formées sur l'organisation de ce type. Bien que remontant à une époque déjà assez éloignée, les idées de Stein peuvent être considérées comme appartenant à la période actuelle, Stein s'étant toujours placé, avec une certaine réserve toutefois, au point de vue de l'unicellularité des Infusoires (1). Nous aurons par conséquent à y revenir plus loin.

Sous le nom de *Drepanostoma striatum*, Engelmann (2) a décrit un Cilié qui n'est évidemment autre que notre *Loxodes rostrum*. S'il ne l'a pas identifié avec cette dernière espèce, c'est probablement parce qu'il avait affaire à de petits exemplaires de $0^{mm},185$ à $0^{mm},25$, qui diffèrent assez

(1) *Organismus*, II. Abth. 1867, p. 22.

(2) W. Engelmann, Zur Naturgeschichte der Infusorien. *Zeitschr. f. wiss. Zool.* Bd. XI, 1862, p. 382.

sensiblement des grands, notamment par leur aspect incolore et la présence de deux noyaux seulement. Engelmann a fait surtout des observations intéressantes sur le mode de ciliation, dont ses prédécesseurs avaient une idée fort inexacte, puisqu'ils admettaient que le Loxode était uniformément cilié sur toute sa surface, tandis que, ainsi que Engelmann l'a montré, les cils n'existent qu'à la face ventrale du corps, qui porte en outre, sur ses deux bords, une rangée de soies fines et rigides. Il décrit les espaces intertrabéculaires du parenchyme (plasma) comme modifiant lentement leur forme et tenant lieu de vésicule contractile. Enfin, le premier, Engelmann signale les nucléoles (micronucleus), dont un se trouve accolé à chaque noyau.

Parmi les espèces décrites par Wrzesniowski (1) dans ses observations sur les Infusoires des environs de Varsovie, nous trouvons le *Loxodes rostrum*, sur lequel l'auteur nous donne des détails assez complets, accompagnés de figures réputées les meilleures que nous possédions jusqu'ici de cette espèce, puisque Bütschli en a reproduit la principale dans ses *Protozoa*, en la complétant, il est vrai, par les détails qu'il y a surajoutés. Le péristome, la bouche et l'œsophage sont décrits à peu près comme l'ont fait Claparède et Lachmann. Au fond du péristome, notre auteur a observé une fine striation transversale, qu'il interprète comme une rangée préorale de cils implantés au bord interne de cette cavité. Nous verrons que cette interprétation n'est pas exacte. Il décrit avec assez de fidélité la forme et la situation de l'orifice buccal à l'extrémité postérieure du péristome. Il signale la structure de la substance du corps, qu'il distingue en un parenchyme extérieur disposé en une mince couche à la paroi interne du corps, et un parenchyme intérieur formant un réseau de trabécules entrecroisées dans tous les sens et séparées par des espaces remplis d'un liquide aqueux; il montre les variations d'aspect que ce système trabéculaire présente dans les différentes parties du corps et d'un individu à l'autre, la largeur plus grande

(1) Wrzesniowski, Beobachtungen über Infusorien aus der Umgebung von Warschau. *Zeitschr. f. wiss.. Zool.* Bd. XX, 1870, p. 495.

des mailles du réseau dans la partie postérieure, la présence constante des aliments dans l'intérieur des ramifications du parenchyme central et leur absence dans le parenchyme pariétal ainsi que dans les espaces intertrabéculaires. Wrzesniowski critique l'opinion de Claparède et Lachmann, suivant laquelle les trabécules, considérées par ces auteurs comme les ramifications d'un intestin, seraient revêtues à leur surface d'une membrane limitante, par laquelle ils croyaient pouvoir expliquer la rétention des aliments dans l'intestin. Suivant l'observateur polonais, il suffit, pour l'explication de ce fait, d'admettre que le parenchyme (plasma) présente une densité plus grande à la surface des trabécules, où il est en contact avec le liquide aqueux, ainsi que Kühne l'a établi pour les amibes et Hofmeister pour le protoplasma végétal. La situation de l'anus est indiquée au même point où l'avait placé Engelmann, c'est-à-dire au côté gauche de l'extrémité postérieure du corps. Le nombre, la forme et la disposition des vésicules de Müller, leur situation à la limite du parenchyme extérieur et du parenchyme intérieur, dans lequel elles sont toujours plongées, sont exactement indiqués par l'auteur dont nous analysons les observations. Le corpuscule central de ces vésicules n'est pas formé de graisse, comme le pensait Stein, mais est vraisemblablement un produit d'excrétion urinaire, comme les concrétions, analogues par leur aspect physique et leurs réactions chimiques, qu'on observe chez d'autres Infusoires et dans l'épithélium stomacal de certains Entomostracés. Le système nucléaire est formé de nombreux petits noyaux chez les grands exemplaires, et de nucléoles (micronucleus), également en grand nombre, généralement placés à côté des noyaux. Les plus petits exemplaires seraient dépourvus de tout noyau. Par l'emploi de la teinture d'iode, Wrzesniowski se serait assuré que tous les noyaux sont reliés les uns aux autres par des filaments ou commissures, de manière à former une chaîne continue. Nous reviendrons plus tard sur ces dernières observations de Wrzesniowski pour en examiner le bien fondé.

Est-ce réellement une espèce nouvelle du genre *Loxodes* que celle que Stokes a décrite sous le nom de *L. ma-*

gnus (1)? La description et la figure qu'il en donne se rapportent complètement à certains exemplaires du *L. rostrum* de grande taille, à forme plus élancée que chez la plupart de leurs congénères de la même espèce. Le grand nombre des vésicules de Müller formant une rangée continue au bord latéral droit ou convexe du corps se rencontre aussi chez certains individus du *L. rostrum*. Du reste, Stokes ne donne aucun détail intéressant nouveau sur l'organisation de l'animal observé par lui. Il admet, ce qui est douteux, que les vésicules contractiles sont nombreuses, placées dans la partie postérieure du corps, et non positivement individualisées. L'entoplasme est vacuolaire, la coloration brune, les cils et les soies rigides de la face dorsale courts et fins.

Dans un travail antérieur, Stokes a décrit également un Loxode, mais n'ayant pu me procurer le volume du recueil (2) dans lequel ce travail a paru, je ne sais s'il s'agit du *L. rostrum* ou d'une autre espèce de ce genre.

Les idées de Bütschli concernant notre animalcule sont exposées d'une part dans son grand mémoire sur l'œuf et la conjugaison des Infusoires (3), d'autre part dans ses *Protozoa* de Bronn's Thier-Reich. Dans le premier ouvrage, il ne décrit que le système nucléaire et la multiplication par division. Dans le second, il nous donne sa manière de voir sur les divers détails d'organisation du Loxode, et résume en une diagnose de ce genre, dans la partie systématique, les principaux caractères qu'il attribue à ce type de Cilié, dont il fait une sous-famille des *Loxodina*, de sa famille des *Trachelina* (4). Nous reviendrons en temps et lieu sur les observations de Bütschli.

On voit par l'historique assez complet qui vient d'être présenté des travaux sur le Loxode que ce type a déjà oc-

---

(1) Alfred C. Stokes, Some new Hypotrichous Infusoria from American Fresh-Waters. *The Annals and Mag. of Nat. Hist.*, vol. XX. Fith Series, 1887, p. 104.

(2) Silliman's *Amer. Journ. of Science*, vol. XXVIII, 1884.

(3) O. Bütschli, Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle und die Conjugation der Infusorien, 1876.

(4) Bütschli, *Protozoa*, p. 1694.

cupé de nombreux observateurs et non des moins célèbres. En venant apporter à mon tour quelques contributions à l'histoire de cette forme intéressante de Cilié, j'espère que le lecteur jugera que je n'y ai pas employé un temps inutile.

Le *Loxodes rostrum* appartient à cette catégorie assez peu nombreuse de Ciliés où les différences individuelles de taille présentent une grande variabilité. C'est ce qu'ont remarqué presque tous les observateurs depuis O.-F. Müller, qui indique le rapport extrême de 1 à 10 comme celui qu'il a observé à cet égard. Je n'ai guère vu des différences de plus de 1/3 à 1/4, les plus grands individus mesurant $0^{m},58$.

On peut décrire brièvement la forme générale du Loxode comme celle d'une lamelle fusiforme dont l'extrémité antérieure acuminée se recourbe élégamment en arc de cercle vers un des bords, et imite une sorte de bec ou rostre, qui donne à l'animal la physionomie spéciale qui a frappé tous les observateurs (*fig.* 1). La fosse préorale, avec la bouche qui la termine postérieurement, est placée sur une des faces, très près du bord concave du rostre, et a la forme d'un sillon falciforme parallèle à ce bord. Cette face, qui représente par conséquent la face ventrale, se distingue, en outre, de la face opposée ou dorsale par plusieurs autres caractères dont il sera question plus loin.

L'animal étant supposé placé sur sa face ventrale (*fig.* 2) présente un bord droit et un bord gauche. Le bord droit commence à l'extrémité du rostre et forme une ligne convexe continue jusqu'à la partie postérieure du corps, en dépassant un peu l'extrémité de son axe longitudinal pour rejoindre le bord gauche. Celui-ci commence aussi à la pointe du rostre, présente d'abord une partie concave, qui longe le côté externe du péristome, devient graduellement plus convexe vers la partie moyenne renflée du corps, puis de nouveau légèrement concave à sa partie terminale. La pointe du corps ne regarde pas directement en arrière, mais est placée sur le bord gauche, qui se trouve être par suite plus court que le bord droit. Le corps présente en conséquence, à son extrémité postérieure, une légère courbure,

qui regarde dans le même sens que la courbure antérieure, plus marquée, formée par le rostre, et l'asymétrie de l'animal présente par suite un caractère plus prononcé.

La description et les figures que Wrzesniowski donne du Loxode sont entièrement conformes aux miennes ; je dois dire cependant qu'elles ne s'appliquent exactement qu'aux grands exemplaires, tandis que chez ceux de taille moyenne, et plus encore chez les plus petits individus, le corps présente une forme plus régulière dans sa partie postérieure. Chez ceux-ci, du moins chez la plupart, les deux bords latéraux forment dans cette région une ligne convexe de même courbure, et se rejoignent sur un point placé plus ou moins exactement sur l'axe longitudinal du corps, qui se termine ainsi par une extrémité lancéolée plus ou moins régulière (*fig.* 5). Quelques exemplaires enfin, quelle que soit leur taille, sont entièrement arrondis à leur partie postérieure, mais il est très possible que ce soient des individus issus depuis peu de temps d'une division et qui n'ont pas encore entièrement récupéré leur forme normale.

La courbure du corps vers un de ses bords, qu'elle soit limitée en avant ou ait lieu aussi en arrière, comme nous venons de le décrire, n'est pas la seule inflexion que subisse le corps du Loxode. Les bords latéraux eux-mêmes se relèvent de chaque côté en se renversant de la face ventrale vers la face dorsale (*fig.* 2). Quelquefois il y a un véritable enroulement de ces bords sur eux-mêmes. Cet enroulement est toujours plus prononcé pour le bord droit que pour le bord gauche. Il commence pour chaque bord d'une manière d'abord peu sensible dans la région du rostre, devient de plus en plus prononcé vers la partie moyenne et se termine insensiblement, comme en mourant, à la partie postérieure. Il résulte de ce relèvement en dessus des parties latérales que le corps est plus ou moins convexe à sa face ventrale, tandis qu'il est concave ou plus ou moins excavé en gouttière à sa face dorsale. Cette disposition ne s'observe bien que chez les individus qui ne renferment pas d'aliments ou qui n'en contiennent qu'une quantité modérée, tandis que ceux qui en sont gorgés — et le Loxode, qui est un animal vorace, se trouve souvent dans ce cas — offrent un aspect fort différent. Grâce à la ténuité et à l'élasticité de la

cuticule qui forme l'enveloppe extérieure du corps, celui-ci se distend de plus en plus, à mesure que les aliments s'accumulent dans son intérieur. Cette distension a surtout lieu à la face dorsale. Cette face se bombe d'abord dans sa partie moyenne, qui forme le fond de la gouttière ; la saillie s'étend ensuite aux parties latérales, dont les replis s'effacent, et le dos ne forme plus qu'une seule surface convexe étendue dans tous les sens et d'autant plus proéminente que le corps est plus rempli d'aliments. La face ventrale, moins extensible, reste souvent plane ou présente une convexité moindre que la face dorsale, mais dans quelques cas elle forme une saillie tout aussi prononcée que cette dernière (*fig.* 3). Une autre condition donne aussi lieu quelquefois à une déformation analogue du corps. C'est une accumulation surabondante de liquide dans les vacuoles intérieures du plasma, produisant un véritable état hydropique de l'animal. On l'observe surtout chez les individus qui ont longtemps séjourné en vase dans de petites quantités de liquide, et qui se trouvent par conséquent probablement dans un état pathologique déterminé par l'insuffisance de l'air et de la nourriture. Qu'il s'agisse d'individus dans cette dernière condition ou au contraire d'animaux très abondamment nourris et gorgés d'aliments, c'est par des faits de ce genre que je crois pouvoir m'expliquer la description que Engelmann et Bütschli (1) ont donnée comme la forme normale du Loxode. Suivant ces auteurs en effet, l'animal aurait la face ventrale aplatie et la face dorsale convexe ; ils ne font aucune allusion au reploiement du corps vers cette dernière face, comme je l'ai indiqué plus haut. Si, comme je le suppose, ils avaient affaire à des individus dont le corps était distendu par la nourriture, il leur eût suffi de les placer pendant quelques jours dans une goutte d'eau pure pour les voir se débarrasser par la défécation des masses qu'ils renfermaient et reprendre leur forme véritable, qui est celle que j'ai décrite.

(1) Bütschli appelle côté droit du corps ce que j'ai décrit ci-dessus comme face ventrale, et côté gauche la face opposée ou dorsale. C'est que Bütschli oriente l'animal en le plaçant sur le bord près duquel est située la bouche, et qu'il décrit dès lors comme bord ventral : ce qui pour moi représente le dos et le ventre devient pour Bütschli côté gauche et côté droit (*Protozoa*, p. 1694).

Le corps est flexible et élastique, il jouit aussi d'une assez grande contractilité, mais les contractions ne sont pas brusques, instantanées, spastiques, pour employer l'expression de Perty. Elles consistent en torsions lentes du corps sur lui-même, surtout dans la portion formée par le rostre, qui se recourbe dans tous les sens et dont l'animal se sert comme d'un instrument de palpation. Lorsque les contractions prennent plus d'ampleur, elles impriment au corps un mouvement de torsion autour de son axe longitudinal par lequel il se retourne tantôt sur une face tantôt sur l'autre, comme O.-F. Müller l'avait déjà fort bien décrit : *sæpe in alteram paginam præceps projicitur* (1). Lorsque l'animal nage en plein liquide, les mêmes mouvements sont plus précipités et font exécuter au corps une rotation assez rapide sur lui-même tout en se mouvant en ligne droite. Mais le plus ordinairement le Loxode se plaît parmi les détritus végétaux du fond, tantôt glissant entre les débris, tantôt rampant à leur surface à l'aide de ses cils, la pointe du rostre et conséquemment la bouche presque toujours dirigée en bas. C'est seulement sous une couche d'eau profonde que notre animalcule paraît apte à se saisir de sa nourriture, comme le prouve une expérience que j'ai répétée bien des fois et qui consiste à le placer sur une lame de verre, dans une goutte d'eau pure à laquelle on a ajouté quelques grains de fécule. Observé pendant plusieurs jours, jamais il n'est surpris avalant un de ces grains et on n'en trouve jamais non plus un seul dans son intérieur. Qu'on mêle au contraire de la fécule à la vase du fond où se plaît l'animal, on le trouvera déjà au bout de quelques heures entièrement rempli de grains de cette substance. L'observation du mode de préhension des aliments est malheureusement impossible dans cette dernière condition, et c'est ce qui explique pourquoi aucun observateur n'a encore réussi à observer l'animal au moment où il mange et à voir comment fonctionne la bouche dans l'ingestion des aliments. Je n'ai pas été plus heureux, sous ce rapport, que mes devanciers, malgré tous mes efforts pour m'en rendre témoin.

---

(1) O.-F. Mueller, *Animalcula infusoria*, 1786, p. 95.

Tous les auteurs ont noté les différences de coloration du Loxode suivant la taille des individus. Les plus petits sont parfaitement incolores ; à mesure que la taille s'élève, la coloration devient jaunâtre ou brunâtre, et varie de la teinte feuille morte à celle de la rouille ; elle passe au bistré chez quelques grands exemplaires, qui se distinguent par suite immédiatement, même à l'œil nu, parmi les autres Ciliés, lorsqu'on examine sur un fond blanc une population mélangée parmi laquelle se trouvent des Loxodes. Nous examinerons plus loin quel est le siège de cette coloration sur lequel les auteurs ne paraissent pas être d'accord.

Le *système ciliaire* du Loxode n'a commencé à être bien connu que depuis les observations d'Engelmann. Engelmann a montré que la face ventrale seule était garnie de cils vibratiles disposés en rangées longitudinales parallèles, tandis que la face dorsale en était entièrement dépourvue et ne portait qu'une rangée de soies, courtes et rigides, assez espacées, le long de chacun de ses deux bords. Wrzesnioswki et Bütschli ont confirmé cette description, qui concorde aussi avec mes observations personnelles (*fig.* 2, 3). Je critiquerai seulement dans leurs figures les soies marginales, qui sont trop fortes et ressemblent trop à des pointes épineuses hérissant les bords du corps. J'ai toujours trouvé, au contraire, ces soies tellement fines et pâles que leur observation en était rendue fort difficile. Cette difficulté est encore accrue par le fait qu'elles sont insérées sur les arêtes des deux replis que le corps présente de chaque côté, lorsqu'il est vu par la face dorsale, et sont dirigées en dedans (*fig.* 2, 3), ce qui ne les rend visibles que lorsque l'animal, tournant lentement sur lui-même, amène successivement chaque arête sur la ligne de profil du corps. Les cils vibratiles, qui forment des rangées parallèles à la face ventrale, sont aussi difficiles à voir à l'état vivant, en raison de leur finesse et de la rapidité de leurs mouvements, mais en paralysant les cils par l'action des réactifs, notamment de l'acide osmique, qui ménage bien leur forme, on s'assure qu'ils sont assez longs et très rapprochés les uns des autres sur une même rangée (*fig.* 7).

Il est assez difficile d'indiquer d'une manière exacte le

nombre des rangées de cils vibratiles, mais je ne crois pas être très loin de la vérité en portant ce nombre à 24 ou 26, et en évaluant $0^{mm},006$ l'intervalle des rangées mesuré au milieu du corps, ce qui donne $0^{mm},14$ à $0^{mm},15$ pour la largeur totale (1) de la face ventrale prise au même niveau.

Outre les cils de la face ventrale et les soies marginales qui viennent d'être décrites, on remarque sur l'arête gauche de la face dorsale du rostre une rangée de cils plus forts, assez courts, égaux, insérés régulièrement les uns à côté des autres et affectant au bord antérieur convexe de ce prolongement la disposition que Dujardin a très heureusement comparée à une crinière chez quelques espèces de sa famille des Trichodiens (2). Cette crinière (*fig.* 2, *cr*, 3) s'avance jusqu'à la pointe du rostre, passe de là sur la face ventrale de ce prolongement, et descend le long du bord droit du péristome jusqu'à sa terminaison à la bouche. Bien connu chez les autres Trachélides, les *Amphileptus*, *Lionotus*, *Dileptus*, la crinière n'avait pas encore été signalée jusqu'ici chez le Loxode; elle constitue un nouveau trait de ressemblance de celui-ci avec les autres types de la même famille, tandis que la ciliation exclusivement hypotriche du Loxode lui donne des rapports plus spéciaux avec le genre *Lionotus* (3).

La *paroi* du corps ou tégument extérieur (*fig.* 3) est excessivement mince et ne m'a paru composée que d'une seule couche, que l'on peut considérer soit comme une cuticule ou pellicule (Bütschli), soit comme un ectoplasme homogène, car je n'ai pas réussi à y reconnaître la structure alvéolaire que cette couche présente chez un grand nombre de Ciliés (Bütschli). A sa face externe, on distingue, du côté ventral (*fig.* 6, *fv*), les côtes sur lesquelles sont insérées les rangées de cils vibratiles (*stc*), et entre

---

(1) C'est-à-dire en supposant les deux replis qu'elle forme vers la face dorsale étalés et placés sur le même plan que la partie non reployée.

(2) Dujardin, *loc. cit.*, p. 392.

(3) Au sujet de la ciliation du *Lionotus*, voyez les observations de Wrzesniowski, (*Zeitschr. f. wiss. Zool.*, Bd. XX, p. 495, 1870), Geza Entz (*Mittheil. aus der zoolog. Station zu Neapel*, Bd. V, p. 323, 1884), Schewiakoff *Bibliotheca zoologica*, Heft 5, p. 19, 1889).

ces côtes, une striation beaucoup plus fine et plus serrée, formée de lignes pâles, parallèles aux côtes, étendues d'une extrémité à l'autre du corps. Ces dernières stries ne portent pas de cils vibratiles ; elles paraissent formées par une fine sculpture de la cuticule sur toute la surface du corps, car on les observe aussi à la face dorsale (*fig.* 6, *fil*), tandis que la striation correspondant aux côtes ciliées manque sur cette face; nous savons, en effet, qu'elle est entièrement dépourvue de cils vibratiles.

L'entoplasme présente la structure réticulaire bien connue depuis Claparède et Lachmann, qui le prenaient pour un canal intestinal ramifié. L'aspect de ce réseau plasmique varie non seulement d'un individu à l'autre, mais aussi dans les diverses parties du corps d'un même individu (*fig.* 1, *ent*, 2, 3). Ce que l'on peut dire de plus général à cet égard, c'est que les mailles ou espaces intertrabéculaires sont ordinairement plus petites et plus serrées dans la partie antérieure que dans les autres régions et surtout qu'à la partie postérieure, où elles sont souvent très larges et paraissent remplir une fonction spéciale sur laquelle nous reviendrons. C'est presque toujours dans les trabécules du réseau, très rarement dans les vacuoles intertrabéculaires que sont renfermés les aliments.

Les cavités intertrabéculaires ne contiennent, au contraire, qu'un liquide aqueux, parfaitement incolore et transparent. Pour expliquer comment les aliments ne sortent pas des trabécules pour tomber dans les espaces qui les séparent, il n'est nullement nécessaire, comme le fait Wrzesniowski, d'admettre l'existence d'une couche de plasma plus dense à leur surface, et encore moins, comme le voulaient Claparède et Lachmann, une paroi membraneuse autour des ramifications de leur prétendu intestin. La viscosité du plasma suffit amplement pour retenir les aliments dans son intérieur en les engluant, en quelque sorte, et comme ceux-ci n'ont pas de mouvements indépendants du plasma, ils suivent passivement ses contractions qui font sans cesse et lentement varier l'aspect du réseau.

Outre les aliments qui sont grossiers et très variés, car le Loxode engloutit pêle-mêle Ciliés, Flagellés, Rotateurs, Oscillaires, Diatomées, etc. (*fig.* 1, AA, 16, A) l'entoplasme

contient d'innombrables petites granulations, les unes pâles et très fines, les autres sombres et plus volumineuses. Les premières ou granulations protoplasmiques proprement dites, semblables à celles que l'on observe dans l'entoplasme de tous les Ciliés, sont répandues dans tous les points du réseau plasmique. Les granulations foncées, constituées probablement par des produits d'excrétion, sont, au contraire, limitées pour la plupart à la face ventrale du corps (*fig.* 3, *fc*), où elles sont disposées en petites rangées parallèles, plus ou moins longues et régulières, sur le trajet des côtes ou lignes d'insertion des cils vibratiles (*stc*) qu'on remarque sur cette face. Il n'y en a point ou un petit nombre seulement à la face dorsale privée de cils (*fig.* 3, *fd*). La localisation des granulations foncées à la face ventrale ciliée est intéressante en ce qu'elle semble prouver qu'elles sont réellement de nature excrétoire et que leur production est en rapport avec l'activité plus grande des processus chimiques sur la face qui porte les organes de mouvement. Leur forme est généralement arrondie, leur volume très inégal, mais toujours fort petit. Examinées à la lumière polarisée, un petit nombre seulement ont présenté le phénomène de la double réfraction en prenant un aspect brillant, tandis que la plupart sont restées obscures. D'après ces caractères et leurs réactions chimiques sur lesquelles je crois inutile d'insister ici, il me paraît probable qu'un certain nombre au moins de ces corpuscules sont des concrétions urinaires et probablement des urates. J'ajouterai, enfin, pour achever l'histoire de ces corps que, quelques-uns, ordinairement les plus volumineux, sont entourés d'une zone claire, semblable à une vacuole au centre de laquelle ils se trouveraient placés, ce qui lui donne une assez grande ressemblance avec les vésicules de Müller dont il sera question plus loin.

On peut, avec Wrzesniowski qui la décrit sous le nom de parenchyme extérieur, distinguer comme une partie spéciale de l'entoplasme la couche mince de cette substance qui revêt la face interne du tégument du corps. C'est proprement dans cette couche que sont logées les petites granulations obscures de la face ventrale dont nous venons de parler. A la face dorsale, elle loge les vésicules de Müller (*fig.* 1,

2, 3, *cM*). Enfin, dans toute son étendue, mais principalement à la face ventrale, elle est comme imprégnée de très petites granulations pigmentaires, plus ou moins abondantes, qui donnent aux grands exemplaires la coloration brune qui caractérise ceux-ci. Cette couche pigmentaire paraît comme découpée en bandes longitudinales parallèles, à la face ventrale (*fig.* 7), par les côtes claires qui portent les cils vibratiles, ce qui donne à cette face un aspect fort semblable à celui que présentent sur toute la surface de leur corps les espèces du genre *Stentor*, où, comme on sait, cette apparence striée est due à l'alternance des bandes granuleuses et des stries claires de l'ectoplasme.

Immédiatement au-dessous de la pointe du rostre, à la face ciliée du corps, on remarque une petite surface concave, en forme de croissant allongé, parallèle au bord contre lequel elle est placée. C'est la *bouche*, ou plutôt le sillon ou fosse préorale, si l'on veut réserver le nom de bouche à la partie postérieure (*fig.* 1, *b*) de cette fosse qui communique avec l'œsophage. La forme de cet organe est proprement celle d'une petite dépression naviculaire, étroite en avant, plus large en arrière, fermée par une membrane épaisse, tendue entre ses bords (*fig.* 1, *mb*). Le côté droit ou interne de la fosse préorale est bordé par une bande de plasma, fortement pigmentée en brun (*fig.* 1, 4, *bd*), qui suit la concavité du bord en s'élargissant d'avant en arrière. Le côté gauche ou externe est limité de même par une bande brune, plus étroite que la précédente, et tellement rapprochée du bord concave du rostre qu'elle se confond presque avec ce bord (*fig.* 4, *bg*). Les deux bandes se rejoignent en avant au dessous de la pointe du rostre, et se confondent par leur partie postérieure élargie pour former d'abord la paroi de la bouche (*fig.* 1, *b*), puis pour se continuer ensemble à l'intérieur du corps sous forme d'un tube légèrement sinueux, dirigé obliquement d'avant en arrière et de dehors en dedans : c'est l'*œsophage* (*fig.* 1, 4, *œ*).

Les parois de l'œsophage sont relativement épaisses, imprégnées des mêmes fines granulations pigmentaires brunes que les bandes latérales de la fosse préorale. Lorsque l'œsophage est légèrement entr'ouvert, sa lumière dessine une mince ligne claire qu'on peut suivre dans son axe lon-

gitudinal jusqu'à l'extrémité où l'œsophage se termine brusquement (*fig.* 4, *œ*). Jamais on ne le voit communiquer avec une vacuole intérieure, mais son extrémité plonge toujours dans la substance même du plasma.

La membrane (*fig.* 1, *mb*) qui ferme la fosse préorale et la transforme en un canal, est, comme nous l'avons dit, assez épaisse, si l'on en juge par sa coupe optique. Elle adhère intimement au bord externe de la fosse, dont jamais elle ne se sépare même par une forte pression. Elle s'écarte au contraire facilement, même sous une pression légère, du bord interne, dont elle semble simplement se décoller, car la ligne de séparation reste parfaitement nette et ne présente aucune irrégularité (*fig.* 4, *mb*). Le décollement commence d'abord à la partie postérieure, puis, à mesure qu'augmente la pression qui le détermine, il s'avance jusqu'à l'extrémité antérieure de la fosse buccale. Cessant ainsi d'être fixée par un de ses bords, la membrane se rétracte vers le bord opposé fixe en s'épaississant. Si l'on vient à faire cesser la pression en introduisant une goutte d'eau sous le couvre-objet, la membrane revient aussitôt vers le bord qu'elle vient d'abandonner, et s'y applique de nouveau dans toute son étendue, en reprenant l'aspect lisse et tendu qu'elle offrait auparavant. J'ai tout lieu de croire que c'est le même mouvement qu'elle exécute pour découvrir la fossette buccale lorsque l'animal veut manger. Il est fort possible qu'elle fonctionne en même temps comme une lèvre préhensile, à l'aide de laquelle l'animal saisit sa proie, comme font les appendices analogues de la bouche qu'on observe chez d'autres Ciliés.

La contractilité du voile buccal du Loxode me paraît en rapport avec la striation bien marquée, formée par de fines lignes granuleuses transversales, qu'elle présente dans toute son étendue. C'est en effet dans le sens de ces stries que le voile se retire dans la petite expérience rapportée plus haut, et il en est vraisemblablement de même lorsque la contraction du voile s'opère par la volonté de l'animal. La striation s'observe aussi dans les membranes ondulantes bien développées de l'appareil buccal d'autres Ciliés, comme le *Frontonia leucas*, les Pleuronémides, etc. Elle est sans doute, comme le pense Bütschli l'expression d'une

disposition primitive dans laquelle des rangées de cils, de cirres ou de membranelles existaient à la place de ces membranes, qu'elles ont produites plus tard en se fusionnant. Les stries seraient la dernière trace de ce mode d'origine, qui devient parfois encore plus apparent par les laciniures, les franges ou les fibrilles que le bord libre de la membrane buccale présente chez beaucoup d'espèces.

Au point de vue morphologique, la membrane buccale du Loxode est évidemment l'homologue de la membrane ondulante du péristome du *Frontonia leucas* et des Pleuronémides (*Pleuronema*, *Cyclidium*), de la membrane principale des *Lembadion*. L'insertion de la membrane au côté gauche de la bouche ou du péristome parle en faveur de cette homologie. La seule différence existant sous ce rapport entre le Loxode et les autres genres précités, c'est que, chez ceux-ci, la membrane présente un bord libre, qui lui permet d'exécuter des mouvements de vibration ou d'ondulation, tandis que, chez le Loxode, le bord opposé au point d'attache est accolé dans toute sa longueur au côté droit de la fossette buccale et devient par suite complètement immobile. C'est ce qu'on observe du moins quand l'animal ne mange pas; nous ne savons malheureusement pas comment la membrane se comporte lorsqu'il prend de la nourriture.

La situation de l'*anus* a été exactement indiquée par Engelmann chez son *Drepanostoma striatum*, qui, nous le savons, n'est autre qu'un *Loxodes rostrum* de petite taille. Il est placé à la face dorsale, non striée du corps, à une petite distance en avant de sa pointe (*fig.* 3, *a*). Comme chez presque tous les Ciliés, il est complètement invisible hors des moments de la défécation, mais comme ces moments sont fréquents chez les individus bien nourris, il est facile de reconnaître sa position. C'est un orifice qui se dilate en proportion du volume des masses fécales qu'il est destiné à laisser passer, et comme celles-ci sont quelquefois considérables, par exemple lorsqu'elles sont formées par les carapaces de gros Rotateurs, sa dilatation peut acquérir un degré extrême. Après l'expulsion de la masse fécale, on l'aperçoit pendant quelques instants encore sous la forme d'un grand trou irrégulier, béant, dans la paroi du corps

(*fig.* 3, *a*), puis ses bords reviennent lentement sur eux-mêmes, et bientôt on n'en aperçoit plus aucune trace.

Tous les observateurs se sont efforcés de découvrir chez le Loxode une *vésicule contractile* analogue à celle des autres Ciliés. N'y étant pas parvenus, ils ont émis des opinions fort contradictoires sur cet organe dans notre espèce. Stein (1), Engelmann (2), et plus récemment Bütschli (3), avec quelques variantes, voient dans les vacuoles intérieures du plasma une disposition destinée à remplacer la vésicule contractile. Claparède et Lachmann (4) hésitent entre une vésicule contractile et une cavité abdominale. Wrzesniowski (5) déclare nettement que la vésicule contractile manque chez le Loxode, et invoque à l'appui le *Trachelius ovum*, où ces mêmes grandes vacuoles intérieures existent concurremment avec de nombreuses vésicules contractiles bien caractérisées. On pourrait citer, par contre, les Opalines, où les vésicules contractiles font complètement défaut. Mais ce sont des espèces parasites, tandis qu'on admettrait difficilement qu'un organe qui joue un rôle si important dans les fonctions respiratoires des Ciliés puisse manquer chez un animal qui mène une vie libre aussi active que le Loxode. Mais comme il est hors de conteste qu'une vésicule contractile, construite sur le modèle des autres Ciliés, c'est-à-dire ayant la forme d'une cavité bien circonscrite, douée de pulsations rythmiques, munie de canaux afférents et d'un pore excréteur, n'existe pas chez le Loxode, rien n'empêche de voir dans les vacuoles du plasma un système de voies non endiguées ni préformées, un réseau de canaux de drainage se déplaçant et se déformant incessamment par les contractions lentes des trabécules plasmiques qui les limitent. Quant au mode d'évacuation au dehors du liquide renfermé dans les vacuoles, je pense qu'à défaut d'un orifice particulier c'est l'anus qui en fait l'office. C'est en effet dans la région postérieure du corps que ce liquide s'accu-

---

(1) Stein, *Der Organismus, der Infusionsthiere*, I Abth. 1859, p. 91.
(2) Engelmann, *loc. cit.*, p. 383.
(3) Bütschli, *Protozoa*, p. 1431.
(4) Claparède et Lachmann, *loc. cit.*, p. 341.
(5) Wrzesniowski, *loc. cit.*, p. 492.

mule en plus grande quantité, que s'observent les vacuoles les plus volumineuses communiquant largement entre elles (*fig.* 1, *v*, 2, *v*). Je n'ai jamais constaté dans ces vacuoles de contractions brusques et même rythmiques comme celles dont Claparède et Lachmann disent avoir été témoins. Les seuls changements de forme brusques et rapides que j'y ai observés sont ceux qui ont lieu pendant la défécation, et qui se transmettent à une assez grande distance dans le réseau plasmique. On se les explique facilement en admettant qu'à chaque expulsion de masses fécales une certaine quantité du liquide vacuolaire environnant est expulsée en même temps. L'anus s'ouvrant largement et fréquemment pour laisser passer les gros résidus alimentaires, ainsi que nous l'avons décrit, il est même presque impossible qu'une quantité plus ou moins grande de ce liquide ne s'échappe aussi à chaque défécation par cette voie. L'ouverture anale peut donc parfaitement suppléer les fonctions d'un orifice du système excréteur, et contribuer ainsi au renouvellement incessant de l'eau servant à la respiration.

Le long du bord convexe du corps, chez un animal vu par la face dorsale, s'étend la rangée des petits organes vésiculeux qui ont été vus d'abord par Johannes Müller, et décrits fréquemment par la suite sous le nom de *vésicules de Müller*. Ce sont des vacuoles parfaitement sphériques, à contenu clair et hyalin, renfermant à leur centre un globule arrondi, très réfringent, d'aspect foncé (*fig.* 1, 2, 3, 4, *vM*). La rangée longitudinale que forment ces vésicules commence un peu en arrière de la pointe du rostre, à son bord antérieur convexe, et se continue sur le bord droit du corps, qu'elle longe parallèlement, à une petite distance, jusqu'à la partie postérieure. Les quatre ou cinq premières vésicules de la rangée sont ordinairement très rapprochées, quelquefois jusqu'au contact, sans s'aplatir réciproquement; elles s'éloignent ensuite d'autant plus les unes des autres qu'elles se rapprochent davantage de la partie postérieure. Leur diamètre, ainsi que celui du globule central, diminue en même temps avec la distance ou plus rarement reste le même; d'autres fois enfin une ou plusieurs des vésicules postérieures égalent en volume ou dépassent même les plus grosses vésicules antérieures. Le nombre des vésicules est en général proportionnel à la gran-

deur du corps. Chez les plus grands exemplaires, de 0mm,50 à 0mm,58, j'en ai compté 20 à 24 ; chez ceux de taille moyenne (0mm,3 à 0mm,4), 10 à 12, souvent 6 à 8 seulement; enfin les plus petits individus, incolores, de 0mm,16 à 0mm,18, ne renferment que 2 à 4 vésicules de Müller, plus ou moins éloignées l'une de l'autre (*fig.* 5), ou même ne contiennent aucun de ces corps. Elles occupent une situation invariable dans l'entoplasme cortical, et sont toujours entourées d'une couche plus ou moins épaisse ou plus ou moins mince de cette substance, de façon que, tout en proéminant dans les vacuoles du réseau plasmique, leur surface ne baigne pas librement dans le liquide vacuolaire. Les vésicules sont absolument immobiles, ne subissent aucun changement de forme par contraction ou autrement. Le globule intérieur, presque toujours simple (*fig.* 8), rarement double (*fig.* 9), d'un diamètre de 0mm,002 à 0mm,003, est aussi immobile au milieu du liquide de la vésicule et toujours exactement central; je n'y ai pas observé le mouvement de trémulation dont Bütschli le dit fréquemment animé, ce qui lui fait conclure que le liquide intérieur est de consistance aqueuse. Par sa coloration brunâtre, son aspect réfringent et opaque, il ressemble complètement aux granulations sombres du plasma, que nous avons considérées comme des produits d'excrétion. Je me suis assuré par l'examen d'un grand nombre d'individus de toutes les tailles, observés à la lumière polarisée, qu'ils ne présentent pas le phénomène de la double réfraction. On ne doit par conséquent pas les placer dans la catégorie des corpuscules biréfringents qu'on observe chez un grand nombre de Ciliés, et que nous avons vus exister aussi dans le plasma du Loxode, mêlés à des corpuscules à réfraction simple. A l'aide de forts grossissements, on s'assure qu'ils sont néanmoins formés de couches concentriques, qui leur donnent une certaine ressemblance avec de petits grains d'amidon (*fig.* 8, 9). Wrzesniowski et Bütschli ont déjà prouvé par leurs réactions chimiques qu'ils ne sont pas formés de graisse, comme le supposait Stein, et je ne puis que confirmer leur manière de voir. L'opinion de Maupas (1), qui les compare aux sphérules

(1) Maupas, Contribution à l'étude morphologique et anatomique des Infusoires ciliés. *Archives de Zool. exp.*, 2e série, t. I, 1883, p. 619.

albumineuses des Radiolaires, a également déjà été écartée par Bütschli comme invraisemblable. Mes observations personnelles sur les réactions microchimiques de ces corps m'ont conduit à peu près aux mêmes résultats que les deux auteurs précités. Une solution forte de potasse caustique les dissout, mais non instantanément, et après les avoir désagrégés en un amas de petites granulations. L'ammoniaque n'a presque aucune action sur eux ; ils prennent seulement un aspect plus clair et plus brillant. L'acide nitrique pur les dissout rapidement sans dégagement de gaz (Wrzesniowski et Bütschli), cependant quelques-uns se résolvent seulement en un amas de petites granulations brillantes sans se dissoudre, et d'autres encore ne subissent aucun changement, mais disparaissent par l'action subséquente de l'ammoniaque, qui, employée seule, ne les dissout pas (1). L'acide acétique, à l'état de solution ou de concentration, n'exerce sur eux aucune action (Bütschli). L'acide osmique ne les colore pas en noir, caractère qui joint à leur résistance dans les dissolvants de la graisse prouve contre leur nature graisseuse.

Si par ces caractères la nature chimique des globules des vésicules de Müller n'est pas parfaitement élucidée, on peut du moins considérer comme très probable que ce sont des produits d'excrétion analogues aux granulations foncées qui se trouvent dans les autres points du plasma. Mais une question intéressante se présente ici, c'est celle de savoir pourquoi ces globules se distinguent parmi les autres corpuscules de même nature et origine par leur disposition régulière et constante en une rangée longitudinale à la face dorsale du corps. On peut faire à cet égard la conjecture suivante. Nous avons vu que les petits granules d'excrétion se trouvent surtout accumulés en grande quantité à la face ventrale, et disposés pour la plupart en petites rangées longitudinales, parallèles aux lignes d'insertion des cils vibratiles (*fig.* 3, *fv*). Sur la face dorsale, au contraire

(1) Je puis ajouter ici qu'en employant ces deux réactifs selon la méthode qui donne la réaction de la murexide, j'ai toujours vu les globules des vésicules de Müller se dissoudre complètement, sans laisser de résidu rouge pourpre, indice de l'acide urique.

(*fig.* 3, *fd*), ils manquent presque complètement. On peut se demander dès lors si les globules des vésicules de Müller ne remplacent pas sur cette face les petites granulations libres de la face opposée. Le pouvoir excréteur du plasma serait ainsi localisé dans de petits organes particuliers sur la face dorsale, tandis que sur la face ventrale il serait disséminé dans tous les points du plasma. En donnant à cette excrétion, à l'exemple de plusieurs auteurs, Claparède et Lachmann, Wrzesniowski, Bütschli, la signification d'une fonction urinaire, les vésicules de Müller représenteraient en quelque sorte dans leur ensemble un organe rénal de Cilié, un *cytonephros*, si l'on veut me permettre cette expression. Quant au mode d'évacuation des concrétions des vésicules de Müller, nous ne le connaissons pas mieux que pour les granules urinaires ordinaires. On peut admettre que les concrétions se dissolvent graduellement par leur partie périphérique dans le liquide de la vésicule, tandis qu'un nouveau dépôt solide se produit à leur centre. Cette explication semble confirmée par leur structure : nous savons en effet que les concrétions sont formées de couches concentriques plus ou moins nombreuses, ce qui me les a fait comparer à de petits grains d'amidon (*fig.* 8, 9).

Le *Loxodes rostrum* est du très petit nombre de Ciliés qui ont des *noyaux* multiples, comme l'avaient déjà reconnu Stein, Claparède et Lachmann. A l'état frais, ces noyaux se présentent comme de petits corps arrondis, homogènes et pâles, entourés d'une zone claire (*fig.* 1, 2, 3, 4, *n*, *n*). Leur diamètre est souvent très inégal chez un même individu : je l'ai vu varier de $0^{mm},008$ à $0^{mm},015$. Leur nombre est généralement en rapport avec la grandeur de l'animal. Chez les petits exemplaires incolores, de $0^{mm},16$ à $0^{mm},18$, les noyaux sont très régulièrement au nombre de deux seulement, placés à une certaine distance l'un de l'autre, sur la ligne médiane du corps (*fig.* 5, *n*, *n*). Chez les moyens et grands exemplaires, on en compte depuis une dizaine jusqu'à une trentaine, disposés, suivant leur nombre, en deux, trois ou quatre rangées longitudinales irrégulières, inégales, à peu près à égale distance des deux bords latéraux du corps. Les noyaux sont situés, comme les vésicules de Müller, dans la couche corticale de l'entoplasme,

presque adossés au tégument externe (*fig.* 13), et entourés d'une épaisseur variable de plasma, suivant qu'ils sont en rapport avec les trabécules du réseau ou avec les vacuoles intertrabéculaires. Dans ce dernier cas, ils proéminent dans la vacuole, mais restent toujours séparés du liquide intérieur par une couche plus ou moins mince de substance plasmique, qui se moule sur leur contour extérieur.

Les particularités les plus intéressantes des noyaux concernent leur structure. A l'état frais, ils se présentent, comme nous l'avons dit, sous l'aspect de petites taches circulaires homogènes, entourées d'un limbe clair. Sous l'influence des réactifs, cette apparence se transforme immédiatement en celle d'un anneau entourant à distance un globule central (*fig.* 10, 12, *n*). L'anneau est plus ou moins large, à contour extérieur lisse et égal, à contour intérieur inégal, rugueux ou déchiqueté. Sa substance est toujours plus ou moins fortement granuleuse, tandis que celle du globule intérieur est homogène. Quelquefois l'anneau est assez mince pour simuler une membrane un peu épaisse, soulevée à la surface du corps central ; d'autres fois, son épaisseur égale le tiers ou même la moitié du diamètre du globule intérieur. Celui-ci est séparé de l'anneau extérieur par une zone circulaire, transparente et claire, que traversent parfois radiairement quelques filaments étendus du bord interne de l'anneau au globule. Bütschli (1) a figuré un noyau de Loxode qui montre d'une manière très marquée cette dernière disposition, mais comme je ne l'ai que rarement observée, je crois qu'il s'agit simplement d'une production artificielle consistant en ce que, par suite de la coagulation du plasma nucléaire sous l'influence des réactifs, celui-ci s'étire en filaments lorsque la couche corticale du noyau se sépare de sa masse centrale. Bütschli fait ressortir la ressemblance que les noyaux du Loxode présentent avec ceux de l'*Actinosphærium Eichhornii*, où il a constaté aussi très souvent la structure fibrillaire radiée de la substance intérieure (2). Mentionnons aussi que

(1) Bütschli, Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle, etc., 1876, Taf. XIV, fig. 10. — *Protozoa*, Taf. LX, Fig. 3 d.

(2) Bütschli veut rapprocher aussi cet aspect radiaire du noyau de certains

chez une espèce indéterminée de *Trachelius*, Gruber a décrit et figuré un noyau qui, comme celui du Loxode, représente une vésicule renfermant un globule central, que l'auteur considère comme un nucléole (1).

Pour en revenir au noyau du Loxode, je n'ai pas aperçu, à proprement parler, une membrane d'enveloppe, à moins d'admettre que cette membrane ne soit intimement soudée à l'anneau extérieur et fasse corps avec lui. L'anneau étant réduit parfois à un contour assez mince, il est possible que, dans ce cas, il soit formé par la membrane seule avec une petite quantité de substance nucléaire adhérente à sa face interne. Ainsi s'expliquerait à la fois l'assertion de Wrzesniowski, qui nie la membrane, et celle de Bütschli, qui en admet l'existence. En dedans de l'anneau extérieur, j'ai observé quelquefois un second anneau, toujours plus mince que le premier, tantôt plus rapproché de celui-ci, tantôt plus près du globule central (*fig.* 11, *n*). Ce dernier m'a présenté assez souvent à son centre un petit espace clair et arrondi, correspondant probablement à une petite cavité intérieure.

Les nombreux noyaux que renferme le Loxode sont toujours parfaitement isolés et indépendants les uns des autres ; en d'autres termes, n'étant pas reliés entre eux par des filaments formés par la membrane d'enveloppe, ils ne constituent pas ensemble un noyau unique, moniliforme, comme celui qu'on observe chez d'autres Trachélides (*Loxophyllum meleagris*, *Dileptus anser*). Il y a longtemps que cette indépendance des noyaux du Loxode a été signalée par Stein (2) et par moi (3). Dans une des figures de détail de Wrzesniowski (4), on voit tous les noyaux réunis entre eux par de longs filaments commissuraux en une longue chaîne

---

stades d'évolution des micronucleus du *Stylonychia mytilus* et du *Bursaria truncatella*, mais je crois qu'il s'agit ici de phénomènes tout différents dont ces éléments sont le siège pendant leur division.

(1) A. Gruber, Ueber Kern und Kerntheilung bei den Protozoen. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, Bd. XL, 1884, p. 145, Taf. VIII, Fig. 17.

(2) Stein, *Der Organismus der Infusionsthiere*, II. Abth. 1867, p. 63.

(3) Balbiani, *Recherches sur les phénomènes sexuels des Infusoires*, 1861, p. 55.

(4) Wrzesniowski, Beobachtungen über Infusorien der Umgebung von Warschau, *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, Bd. XX, 1870, p. 494, Taf. XXII, Fig. 25.

moniliforme fort belle, mais malheureusement peu conforme à la réalité. Bütschli a déjà relevé cette erreur de l'observateur polonais (1).

Les micronucleus du Loxode ont été découverts par Engelmann chez son *Drepanostoma striatum*, qui n'est qu'un Loxode de petite taille. A côté de chacun des deux noyaux que possèdent ces petits individus, Engelmann a observé un petit nucléole ovale (2). Chez les grands exemplaires, Wrzesniowski a vu un grand nombre de ces éléments (on en compte douze sur sa figure), accolés tant aux noyaux qu'aux filaments par lesquels il suppose ceux-ci réunis en une chaîne. Bütschli les a également vus en grand nombre. La disposition la plus ordinaire est celle où chaque noyau présente à son côté un petit micronucleus sphérique, lenticulaire ou réniforme, qui lui est souvent accolé par une surface aplatie (*fig.* 1, 4, *mn*, 10, 11, 12, *mn*). D'autres fois, ces petits éléments se trouvent au nombre de un à plusieurs placés à une certaine distance du noyau correspondant, et ils sont alors toujours sphériques. On peut observer toutes ces dispositions chez un même individu. La substance des micronucleus est toujours homogène et réfringente, et, même à l'aide des réactifs, on n'y décèle pas de membrane d'enveloppe. Leur ressemblance à l'état frais avec les noyaux est d'autant plus grande que leur diamètre égale quelquefois presque celui des noyaux : il varie entre $0^{mm},003$ et $0^{mm},008$. Cependant ils se colorent plus difficilement que ceux-ci par le carmin et le vert de méthyle, tandis que le bleu de méthylène les colore avec la même intensité que les noyaux. Il n'est pas douteux, en raison de l'accroissement du nombre des noyaux et des micronucleus avec la taille des individus, que

(1) Bütschli, *loc. cit.*, p. 68.

(2) Récemment, Maupas a proposé de désigner par les termes de *macronucleus* et de *micronucleus* les éléments des Ciliés qui depuis longtemps portent respectivement les noms de noyau et de nucléole. En adoptant dans ses *Protozoa* ces expressions hybrides, créées sur le modèle du fameux *tendilemma* de certain auteur, Bütschli a assuré leur sort, et quelques-uns de ses élèves les ont déjà employées. En présence du fait accompli, il faut faire taire ses scrupules de grammairien, mais le mot *macronucleus* me paraît inutile, attendu qu'il n'y a aucun inconvénient à continuer d'employer le terme noyau ou nucleus pour désigner le noyau principal des Ciliés, et c'est toujours un barbarisme de moins.

tous ces éléments se multiplient par division, comme on l'observe pour les noyaux multiples des Opalines, mais je n'ai pu être témoin des phases de cette division. Bütschli n'ayant pas été plus heureux à cet égard pense, en se fondant sur quelques observations faites chez de très petits individus à un ou deux noyaux, que les nucleus se forment par augmentation de volume et différenciation des micronucleus, tandis que ceux-ci se multiplient par division (1). Les variations de taille que l'on observe souvent chez les micronucleus, comme nous l'avons dit plus haut, prouveraient en faveur de cette opinion de Bütchli, en attendant des observations précises sur le mode de multiplication de ces éléments.

Parmi les phénomènes de reproduction du Loxode, je n'ai observé que la division. J'ai retrouvé dans mes cartons des notes et des figures qui s'y rapportent, et qui remontent à mes premières études sur les Ciliés (1858-1860). Depuis cette époque, j'ai eu de fréquentes occasions d'observer cette division, mais Bütschli est le seul jusqu'ici qui ait publié des observations à cet égard (2). Il a remarqué fort exactement que la division a lieu chez les individus de toutes les tailles, et qu'on l'observe surtout fréquemment chez les petits exemplaires à deux noyaux. Une autre remarque fort juste de Bütschli est que, pendant le cours de la division, on ne constate de modifications d'aucune sorte dans les noyaux et les micronucleus, qu'ils ne se divisent ni ne se fusionnent entre eux, mais se répartissent numériquement entre les deux nouveaux individus. Je puis ajouter ce détail que, sauf les petits individus à deux noyaux où chaque moitié obtient un de ces éléments avec le micronucleus attenant (*fig.* 16, *n*, *n*), leur partage a souvent lieu d'une manière fort inégale. C'est ainsi que chez l'individu représenté dans la figure 14, la moitié antérieure renferme quinze noyaux et la moitié postérieure treize. La même inégalité s'observe aussi dans la distribution des vésicules de Müller entre les deux individus nouveaux. L'étranglement médian du corps et la formation de la nouvelle

(1) Bütschli, *Studien*, etc., p. 76.
(2) Bütschli, *loc. cit.*, p. 76.

bouche sont les premiers signes de leur individualisation. Immédiatement en arrière de la partie étranglée, sur le bord gauche du corps, on voit apparaître d'abord un petit champ triangulaire étroit, limité latéralement par deux minces bandes brunâtres qui se rejoignent postérieurement, tandis qu'elles restent écartées antérieurement : c'est la partie postérieure de la fosse préorale ou péristome avec sa bordure pigmentaire brune (*fig.* 14, 16, *b'*). L'extrémité postérieure de cette fosse se prolonge ensuite dans l'intérieur du plasma sous forme d'une ligne brune, qui marque le trajet de l'œsophage en s'allongeant graduellement. Ce n'est qu'après la séparation de l'individu postérieur que les deux bandes marginales du péristome se prolongent en avant et se rencontrent sous un angle aigu pour délimiter la partie antérieure de la fosse buccale.

Pendant que le péristome se constitue, des changements importants s'accomplissent dans l'entoplasme. Les espaces intertrabéculaires s'agrandissent dans la partie postérieure de l'individu antérieur et forment un système de vacuoles confluentes représentant l'appareil excréteur de nouvelle formation (*fig.* 16, *v'*). Les bandes granuleuses de la couche périphérique de l'entoplasme s'étirent au niveau de l'étranglement médian, et, après s'être graduellement amincies, se coupent en deux moitiés terminées par des extrémités effilées. Une zone de plasma homogène s'interpose entre leurs extrémités (*fig.* 14). C'est dans l'intérieur de cette zone claire, qui marque comme le plan de séparation des deux individus, que pénètre de plus en plus l'étranglement qui finit par les isoler l'un de l'autre. L'individu postérieur, après sa séparation (*fig.* 15), ne présente encore aucune trace de rostre, et se termine antérieurement par un bord convexe, mais il suffit de quelques heures pour que son extrémité antérieure se recourbe en bec, en s'allongeant au-dessus de la bouche, et constitue un rostre parfaitement caractérisé.

Ainsi qu'on peut le voir par la description qui précède, la reproduction par division chez le Loxode rappelle dans presque tous ses traits ce que l'on observe chez la plupart des autres Ciliés, abstraction faite de la manière dont se comportent les noyaux et les micronucleus pendant cette division. La structure particulière de l'appareil buccal du

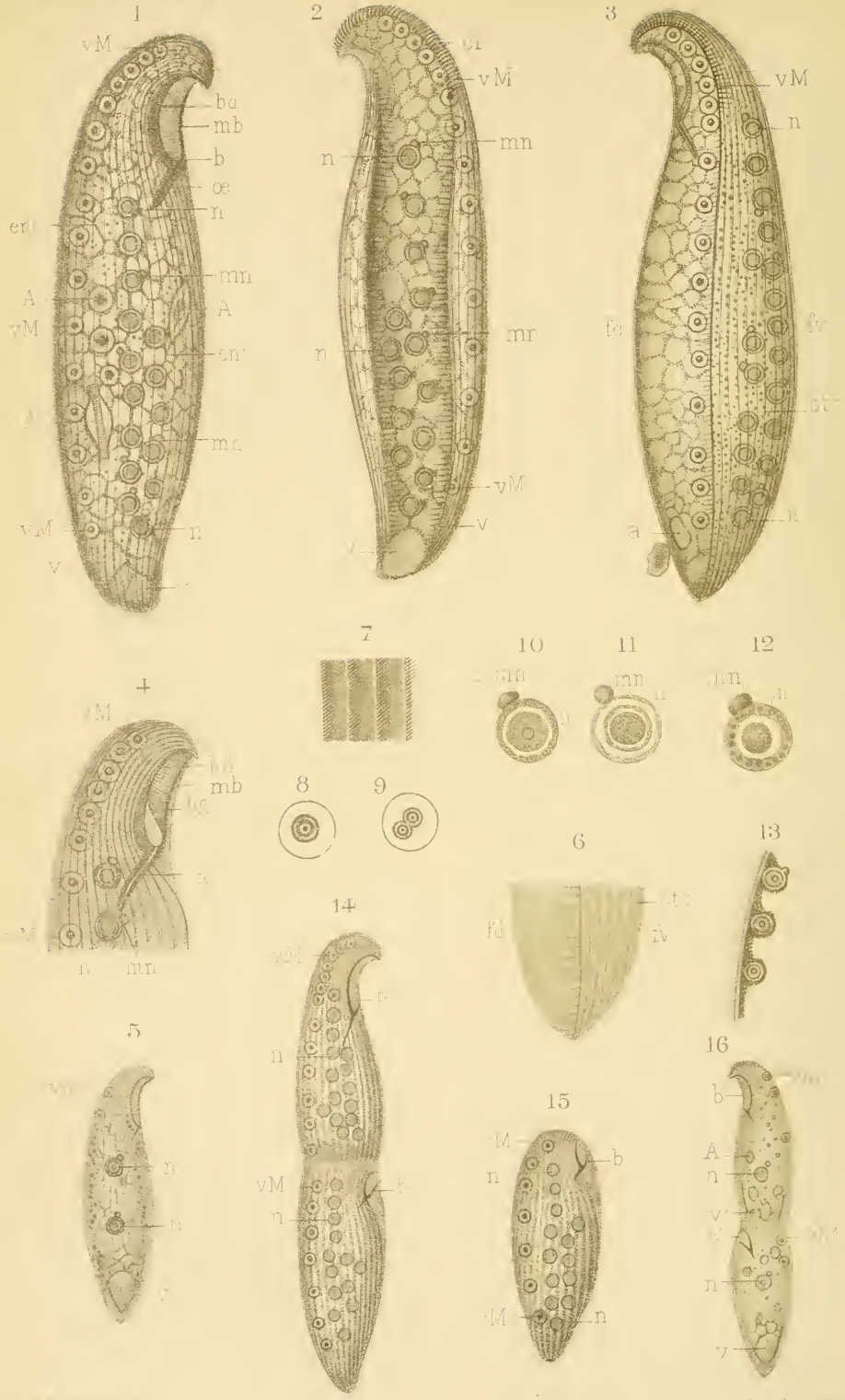
Loxode donnerait beaucoup d'intérêt à une observation plus approfondie, que je n'ai pu faire, de la façon dont cet appareil se régénère chez l'individu postérieur issu de la division. Je veux seulement, à ce propos, rappeler ici l'opinion de Richard Hertwig sur la formation de la nouvelle bouche dans la division des Ciliés en général. Après avoir constaté que chez les Paramécies le cytostome postérieur se forme comme un diverticule (Ausstülpung) du cytostome antérieur, Hertwig en conclut qu'il se forme par un processus identique chez tous les Infusoires : « Für mich unterliegt es überhaupt keinem Zweifel, dass bei allen Infusorien das hintere Cytostom während der Theilung als eine Ausstülpung des vorderen entsteht (1). » A cette généralisation hâtive, j'opposerai : 1° mes observations ci-dessus chez le Loxode, qui nous ont montré que la nouvelle bouche se forme, dès le début de la division, sur un point du corps très éloigné de la bouche ancienne, et sans connexion apparente avec cette dernière ; 2° les observations que l'on peut faire chez un grand nombre de Ciliés, les Stentors par exemple, où l'on voit la bouche nouvelle se former vers le milieu du corps par un enroulement en spirale, s'enfonçant à l'intérieur, de la partie postérieure du nouveau péristome, fort loin, par conséquent, de l'ancienne bouche ; 3° enfin, la régénération de la bouche sur un fragment d'individu dont l'ancienne bouche a été retranchée par division artificielle, ce qui prouve que cet organe, comme toutes les autres parties des Ciliés peut se reconstituer d'une façon complètement indépendante des organes préexistants. Concluons donc que la théorie de R. Hertwig, déduite de ses observations sur les Paramécies, n'a pas l'importance fondamentale pour l'ensemble des Ciliés que l'auteur lui attribue (2).

La conjugaison n'a jamais été observée jusqu'ici chez le *Loxodes rostrum*. Il serait pourtant bien intéressant de

---

(1) Richard Hertwig, Ueber die Conjugation der Infusorien. *Abhandl. der K. bayer. Akademie der Wiss.* II. Cl. XVII, Bd. I. Abth., p. 57, 1889.

(2) Dans un travail récent : Zur Kenntniss des *Stentor cœruleus* (*Zoolog. Jahrbücher. Abth für Anat. und Ontogenie*, IV, Bd. p. 198, 1890). Schuberg nie d'une façon très décidée la théorie de R. Hertwig en ce qui concerne le Stentor.



E. Oberlin lith.

LOXODES ROSTRUM.

Paris, Lafontaine 150, B. du Montparnasse

connaître les phénomènes qui accompagnent la réunion sexuelle chez cette espèce multinucléée. Je me contente de signaler cette lacune regrettable dans l'histoire du Loxode, espérant que la présente étude attirera l'attention des observateurs sur cette forme intéressante de Cilié.

EXPLICATION DE LA PLANCHE IV

La signification des lettres est la même dans toutes les figures : *a*, anus. — *b*, bouche. — *b'* bouche nouvelle de l'individu postérieur produit par division. — *bd*, bord droit de la fossette préorale ou péristome. — *bg*, bord gauche de cette fossette. — *cr*, rangée de cils vibratiles formant la crinière. — *ent*, entoplasme réticulé. — *fd*, face dorsale du corps. — *fv*, face ventrale. — *mb*, membrane buccale. — *mn*, micronucleus. — *n*, nucleus. — *œ*, œsophage. — *s*, rangées de soies rigides des bords latéraux du corps. — *stc*, stries longitudiuales ciliées. — *v*, grandes vacuoles postérieures de l'entoplasme. — *v'* vacuoles de l'individu antérieur, produit par division. — *vM*, vésicules de Müller.

Les figures 1 — 6, 13 — 16 au grossissement de 210 diamètres ; les autres très fortement grossies (environ 730 diam.).

Fig. 1. — *Loxodes rostrum*, individu de grande taille vu par la face ventrale.

Fig. 2. — Individu vu par la face dorsale.

Fig. 3 — Individu dont le corps est distendu par de grandes masses d'aliments, vu par le bord latéral droit. Pour ne pas compliquer les détails, le réseau entoplasmique n'est représenté qu'à la face dorsale et les aliments ont été omis.

Fig. 4. — Extrémité antérieure d'un individu vivant, légèrement comprimé, chez lequel la membrane buccale s'est séparée, par l'effet de la compression, de la partie postérieure du bord droit de la fossette buccale.

Fig. 5. — Individu de petite taille, à deux nucleus seulement, présentant chacun à son côté un micronucleus.

Fig. 6. — Extrémité postérieure d'un individu vu par le bord latéral droit. On voit la double striation de la surface du corps : l'une, très fine et très serrée, l'autre plus espacée, constituée par les stries claires ciliées (*stc*) de la face ventrale; ces deux faces sont séparées par l'arête portant la rangée de soies rigides, *s*.

Fig. 7. — Portion très grossie de la surface ventrale ; elle montre les sillons clairs portant les rangées de cils vibratiles, et les bandes longitudinales larges, non ciliées, de la cuticule, revêtues intérieurement d'une mince couche de granulations pigmentaires brunes.

Fig. 8 et 9. — Vésicules de Müller avec le globule central simple, plus rarement double.

Fig. 10 à 12. — Nucleus et micronucleus. On voit les différents aspects que présentent les nucleus après le traitement par les réactifs, qui les séparent en une ou deux couches annulaires et une masse centrale globuleuse.

Fig. 13. — Coupe optique de la paroi ventrale du corps, montrant la cuticule revêtue extérieurement de cils vibratiles, et intérieurement d'une couche d'entoplasme pariétal dans laquelle sont logés les nucleus et les micronucleus.

Fig. 14. — Individu de taille moyenne en voie de division spontanée.

Fig. 15. — L'individu postérieur de la figure précédente immédiatement après sa séparation de l'individu antérieur.

Fig. 16. — Individu de très petite taille, à deux noyaux, en voie de division.

DE L'ISOLEMENT DU BACILLE TYPHIQUE DANS L'EAU

Par M. le Dr H. VINCENT

Monsieur le Directeur,

Vous avez bien voulu reproduire dans les *Annales de Micrographie* (numéro du 20 avril dernier) ma communication à la Société de Biologie, sur un *Nouveau procédé d'isolement du bacille typhique dans l'eau*. Voudriez-vous me permettre de vous en remercier et d'ajouter quelques mots qui compléteront la technique de cette recherche ?

Je rappellerai qu'on ensemence, dans six tubes de bouillon phéniqué à 0,7 p. 1000, de cinq à quinze gouttes, pour chaque tube, de l'eau à analyser. On ferme d'un capuchon de caoutchouc et on porte à l'étuve à 42°. Dès que les bouillons *commencent* à se troubler, on réensemence une *ose* de chacun :

a) D'une part dans du bouillon phéniqué où on fait subir à la culture un deuxième passage, toujours à 42° ;

b) D'autre part dans des milieux de culture normaux, et à la température de 36°-38° où le bacille typhique pousse souvent déjà seul et pur.

On peut faire une troisième épuration dans le bouillon phéniqué porté à 42°.

Le bacille d'Eberth résiste à ces épreuves. Quelques rares saprophytes, parmi lesquels le *Bacillus subtilis* (résiste peu), un streptocoque fréquent dans l'eau, enfin et surtout le *Bact. mesentericus vulgatus* peuvent se développer dans le bouillon phéniqué, mais ils sont faciles à différencier du bacille d'Eberth, et l'ensemencement dans les milieux de culture normaux (*a*) fixe l'observateur au bout de vingt-quatre heures. Du reste, si le bacille typhique existe concurrem-

ment avec eux, un deuxième ou un troisième passage dans le bouillon phéniqué à une température de 42° le débarrasse de ces saprophytes.

Mais — et c'est là que j'en voulais surtout venir — il y a un organisme, dont la constatation dans l'eau a, du reste, une réelle importance, puisqu'il permet de la juger souillée probablement par les matières fécales : c'est le *Bact. coli commune*. Or ce bacille résiste aussi parfaitement que le bacille typhique à la méthode indiquée ci-dessus. D'un autre côté, comme les eaux qui recèlent le bacille d'Eberth le doivent le plus souvent à la contamination par des matières fécales typhoïdiques et que ces matières contiennent à la fois le bacille typhique et le *B. coli commune*, il en résulte que ces eaux présenteront souvent et simultanément ces deux organismes.

Il peut donc se faire que les bouillons phéniqués fournissent une culture *mixte* donnant sur pomme de terre, une culture jaune et saillante au lieu de la traînée humide et incolore que donnerait le bacille typhique seul. On devra donc en pareil cas faire toujours, avec le bouillon phéniqué, une culture sur plaque pour séparer le bacille d'Eberth de son satellite presque obligé, le *Bact. coli commune*.

Il va sans dire que l'un ou l'autre de ces deux bacilles pourra également sortir seul de l'épreuve du bouillon phéniqué à la température de 42°.

Veuillez agréer, Monsieur, l'assurance de mes sentiments respectueux et dévoués.

H. Vincent.

Paris, 31 *mai* 1890.

SUR LA MORPHOLOGIE ET LA BIOLOGIE DU CHAMPIGNON DU MUGUET

PAR

MM. G. LINOSSIER ET G. ROUX (1)

I. — Morphologie

Le muguet (*Oïdium albicans*, Robin, *Saccharomyces albicans*. Van Tieghem), dissocié par les procédés bactérioscopiques usuels des organismes étrangers avec lesquels il coexiste dans la bouche, se présente dans les cultures soit sous la forme de *levures* (ce qui a pu le faire considérer par la plupart des auteurs modernes comme un saccharomyces), soit sous la forme *globulo-filamenteuse*, qui est sa forme normale sur la langue des malades. Nous n'avons jamais pu obtenir de forme purement *dématioïde*, analogue à celle que décrit Laurent dans le *Cladosporium herbarum*. Mais dans des conditions très étroites de milieu nutritif, de température, etc., nous avons observé une troisième forme non décrite encore et paraissant représenter la forme véritablement *sporifère*.

Si l'on cultive le muguet à la température de 30-35 degrés dans un liquide renfermant, par litre :

Saccharose	20 grammes
Tartrate d'ammonium	10 »
Phosphate de potassium	1 »
Sulfate de magnésium.	0 gr, 2
Chlorure de sodium	0 gr, 1

Cette forme apparaît constamment, au bout d'un temps

(1) *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CIX, p. 752.

assez long lorsqu'il s'agit d'*Oïdium albicans* récemment dissocié des plaques de muguet, très rapidement au contraire lorsque la semence provient du champignon cultivé pendant plusieurs générations sur des milieux artificiels.

Elle est caractérisée par l'apparition à l'extrémité de certains filaments de cellules très exactement arrondies, à protoplasma d'abord très finement granuleux et peu réfringent, se résolvant ensuite en grosses granulations qui entourent comme d'une calotte sphérique un globule central hyalin. La membrane d'enveloppe de cette cellule terminale s'épaissit considérablement et prend une consistance vitrée ; elle s'ouvre, par compression artificielle, en un point qui est toujours topographiquement le même, par une fuite en V à travers laquelle granulations et globule central peuvent s'échapper au dehors. Au cours des processus histochimiques très intéressants dont cette cellule est le siège, on voit apparaître, dans les articles filamenteux qui la précèdent immédiatement, du glycogène, qui pénètre ensuite dans son intérieur et disparaît des articles préterminaux, lorsque les grosses granulations de la cellule terminale se résolvent à leur tour. Le globule central agrandi s'entoure alors d'une fine membrane d'enveloppe et persiste seul au centre de la cellule mère. Celle-ci reste indéfiniment intacte dans les milieux où elle a pris naissance ; mais nous avons pu très nettement saisir sur le fait la germination du globule central lorsqu'on le porte sur des fraises ou des cerises crues mais flambées. Nous pensons qu'il s'agit ici d'une forme durable du champignon du muguet qu'on peut assimiler aux *chlamydospores*, et qui, très probablement, a besoin pour germer et fournir son plein développement d'un nouvel habitat naturel encore inconnu.

La découverte de ces *chlamydospores*, l'absence vérifiée maintes fois par nous de véritable *ascospores* et aussi la façon spéciale dont se comporte le champignon du muguet vis-à-vis des aliments chimiques, nous engagent à rayer dès maintenant cet organisme du genre *saccharomyces* et à réserver sa véritable place taxonomique.

II. — **Biologie**

Nous nous sommes attachés à définir exactement, ce qui n'avait pas été fait avant nos recherches, les conditions qui font apparaître dans les cultures du muguet la forme *levure* occlusive ou la forme *globulo-filamenteuse*.

Il résulte d'expériences nombreuses et variées que l'influence prépondérante est celle de l'alimentation, que nous pouvons résumer, toutes autres influences étant momentanément écartées, dans la proposition suivante :

Dans les cultures du muguet, la complication de la forme croît avec le poids moléculaire de l'aliment.

En d'autres termes, plus ce dernier est de nature chimique plus compliquée, plus il a tendance à la formation de filaments, plus ceux-ci s'allongent et deviennent grêles.

Cette loi remarquable, dont nous nous réservons de rechercher la généralisation chez d'autres organismes, résulte des expériences suivantes :

Dans les liquides renfermant, avec des sels minéraux, un aliment azoté simple, tel qu'un sel ammoniacal, on ensemence du muguet en faisant varier la nature de l'élément hydrocarboné.

Si ce dernier est le glucose ($C^6H^{12}O^6$), la mannite ($C^6H^{14}O^6$), l'alcool (C^2H^6O), la glycérine ($C^3H^8O^3$), le lactate de sodium ($C^3H^5NaO^3$), il ne se développe que des levures.

Si c'est le saccharose ($C^{12}H^{22}O^{11}$), il apparaît des filaments mycélins, courts et trapus, quand la quantité de sucre est faible, plus allongés quand elle augmente.

Si c'est la dextrine, la gomme arabique, dont le poids moléculaire inconnu est à coup sûr plus élevé que celui de la saccharose, les filaments mycéliens s'enchevêtrent en pelotons volumineux auxquels sont appendues des levures.

On peut arriver à des conclusions identiques en constituant les liquides de culture avec les mêmes sels minéraux, un aliment hydrocarboné simple comme le glucose, et en faisant varier la nature de l'aliment azoté ; si celui-ci est un sel ammoniacal, il ne se forme que des *levures;* si c'est de l'albumine, le muguet se développe plus péniblement et

prend la forme *globulo-filamenteuse*. Mais, comme le muguet est surtout un destructeur des substances ternaires, il est moins sensible aux variations de l'aliment azoté qu'à celles de l'aliment hydrocarboné.

Un certain nombre de causes adjuvantes peuvent provoquer ou du moins favoriser la formation des filaments dans les cultures du muguet. Il en est ainsi d'une température élevée (35°), d'un excès d'oxygène (qui agit ici comme sur le *Saccharomyces Pastorianus* ou certains *mucors*), d'une trace de nitrates (bien que ceux-ci ne soient, pour le muguet, ni un aliment ni un poison); par contre, l'état solide du *substratum* alimentaire tend à maintenir, comme l'avait déjà remarqué M. Ch. Audry le muguet sous la forme de levure exclusive.

Les antiseptiques, à des doses qui n'arrêtent pas complètement le développement du muguet, provoquent l'apparition de filaments, même dans des milieux de culture ne renfermant que des aliments simples. C'est comme antiseptique qu'agissent en ce sens les acides ou les alcalis à dose élevée. Enfin, toute semence qui a souffert, soit qu'elle ait vieilli dans le liquide où elle s'est développée, soit qu'elle ait subi l'action d'un antiseptique, transportée dans un liquide favorable à sa nutrition, manifeste une tendance remarquable dans les premiers efforts de végétation à prendre la forme *globulo-filamenteuse*. Duclaux (1) signale chez le *Saccharomyces Pastorianus* une manière d'être analogue.

Une dernière remarque deviendra pour nous le point de départ de nouvelles recherches. Quand le muguet a été cultivé pendant plusieurs générations dans des milieux où il affecte la forme *globulo-filamenteuse*, il prend beaucoup plus facilement cette forme, quand on le transporte dans des liquides nouveaux, que ne ferait le muguet cultivé parallèlement, pendant le même temps, dans des milieux où la simplicité des aliments l'a maintenu à l'état de *levure*.

Il y a dans ce fait l'indication d'une tendance à la formation de races différenciées.

---

(1) Duclaux, *Microbiologie*, page 289.

REVUES ET ANALYSES[1]

P. A. Dangeard. — **Contribution à l'étude des organismes inférieurs** (*Le Botaniste*, 2e série, 1898, 1er fascicule).

Ce mémoire expose les résultats des recherches de l'auteur sur divers Protozoaires et Protophytes, dans l'ordre suivant :

I. *Étude de l'Ophrydium versatile*, Bory. — Après avoir fait connaître les premiers travaux des observateurs qui se sont occupés de cet infusoire, en particulier ceux de Wrzesniowski, de Haliburton et de Harker, M. Dangeard fait un récit détaillé des constatations qu'il a pu faire sur la structure de cet *Ophrydium*, sa fonction digestive et son mode d'organisation. Il traite notamment de la formation et de la nature de ses kystes, puis des effets que produisent sur ces kystes divers réactifs et qui rappellent les observations publiées par M. Fabre-Domergue sur les Vorticelles. Il cite ce fait assez curieux, déjà signalé d'ailleurs sur d'autres infusoires, c'est que le macronucleus qui, dans les individus ordinaires a la forme d'un cordon très allongé, devient sphérique dans les kystes. L'auteur termine cette partie du mémoire par une étude toute spéciale des Zoochlorelles du *Paramecium Bursaria* et de l'*Ophrydium versatile*, dans laquelle il discute plusieurs points de leur histoire en traitant de leur structure, de leur position, de leur mode de division de leur mode d'infection, de leur rôle dans les kystes, enfin de leur nature même. Nous croyons devoir résumer en quelques mots cette étude biologique, en raison de l'intérêt qui s'attache à la question controversée de l'affirmation ou de la négation de leur individualité propre. D'abord, bien que les Zoochlorelles se rencontrent chez de nombreux Protozoaires, leur présence ne paraît pas être constante dans la même espèce, leur nombre est variable et elles disparaissent même parfois pendant l'hiver. Leur forme est sphérique. Leur membrane a donné à M. Dangeard la réaction cellulosique, et quant à l'existence du

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

noyau au milieu du corpuscule, l'auteur affirme avec Brandt, Entz et Schewiakoff, contre Lankester, Ryder et Salitt, qu'elle n'est pas douteuse. Relativement à leur position, les Zoochlorelles se trouveraient plus ou moins engagées dans l'ectosarque. Elles se diviseraient pour former 2-4 cellules, ainsi que l'avaient déjà reconnu Balbiani, Brandt et Schewiakoff. Sans insister sur leur mode d'infection, M. Dangeard expose comment se comportent les Zoochlorelles dans l'enkystement de l'hôte, et appuie sur leur persistance à conserver dans les kystes leur couleur verte caractéristique. De tous ces faits, l'auteur croit pouvoir conclure que les Zoochlorelles ont une individualité propre, que leur nature protococcacée ne peut guère être mise en doute, que par suite ces algues ayant souvent la propriété de secréter abondamment de la gélatine, cette secrétion peut être utilisée par l'infusoire, notamment en lui permettant de produire les masses gélatineuses dont s'entoure l'*Ophrydium*. Cette opinion nous paraît fort plausible, ainsi du reste que nous le montre la symbiose algolichénique, dans laquelle on peut dire que l'hôte tire seul profit de l'algue auquel il donne un asile intéressé.

II. *Observations sur les Acinétiens.* — Les faits observés par M. Dangeard concernent principalement le mode de nutrition, la formation des embryons et le micronucleus chez le *Podophrya fixa*, Müll., le *Metacineta mystacina*, Ehrb. et le *Tricophrya angulata*, sp. nov. L'auteur donne son avis sur plusieurs points controversés touchant la vacuole contractile, la nature des tentacules, la membrane du corps, etc. Il a constaté, après Hertwig, la différence de longueur des tentacules des Podophryes ; ces tentacules ne paraissent être que de simples prolongements du protoplasma fondamental, se renflant pour donner passage aux aliments et pouvant être comparés aux pseudopodes des amibes. Quant à la membrane externe du *Podophrya*, il est certain qu'elle existe ; le noyau est facile à apercevoir dans les individus à jeun, mais il s'agit du macronucléus, car l'auteur n'a pu constater nettement la présence du micronucleus de Maupas. Par contre, M. Dangeard signale deux vacuoles contractiles, alors qu'on n'en attribue généralement qu'une seule aux Podophryes. Enfin, il donne des détails fort intéressants au sujet du mode de nutrition de ces infusoires, à la suite d'une observation faite sur un petit *Cyclidium* touché et fixé par un seul tentacule de l'Acinétien. « La fixation est si énergique, dit-il, que ce *Cyclidium* ne fait aucun mouvement et reste dans la position qu'il avait au moment du contact : ce fait suppose une décharge électrique ou la production d'un poison stupéfiant. » Il ajoute, après avoir décrit les phénomènes consécutifs de l'absorption de cette proie : « On admet généralement que les tentacules *aspirent* le protoplasma de leur victime : cela soulève bien des difficultés. » Néanmoins, il croit fondée l'opinion de Maupas qui a

avancé que le protoplasma de l'infusoire vorace passait par son tentacule pour se mélanger au protoplasma du second infusoire et que ce mélange retournait dans le corps du premier. En effet, cette incorporation des deux plasmas paraît seule capable de rendre compte des changements constatés sur l'un et l'autre infusoire. M. Dangeard termine ce chapitre par un exposé d'observations nouvelles sur le mode de formation des embryons de la Podophrye, sur leur structure et sur différentes phases de leur première existence.

L'auteur parle ensuite de ses recherches sur le *Metacineta mystacina*, Ehrb., chez lequel il a étudié le micronucleus qui n'avait pas encore été signalé ; il en donne une description détaillée et ajoute que ce micronucléus lui paraît susceptible de se diviser.

Relativement au *Trichophrya angulata*, sp. nov., qui termine ce chapitre, M. Dangeard le décrit avec soin et en fait connaître le mode de nutrition, qui présente dans cette espèce un intérêt spécial. Chez cet infusoire, en effet, les tentacules servent d'abord à arrêter la proie, puis elles se recourbent sur elle pour l'amener au contact direct du corps qui l'absorbe directement et rapidement. L'auteur entre dans quelques détails sur différents phénomènes de ce mode de nutrition qui rappelle étroitement celui des Rhizopodes.

III. *Note sur les Flagellés.* — Dans cette note, M. Dangeard traite des caractères généraux qui peuvent servir à la classification des Flagellés, et en particulier de l'homologie complète des flagellums et des pseudopodes. Il s'appuie, à ce sujet, sur les expériences de Zacharias, confirmatives de l'opinion de Dujardin, et croit pouvoir conclure de ses propres constatations, contre Kunstler, que « les flagellums ne sont que du protoplasma condensé, et qu'ils peuvent dériver directement de la transformation des pseudopodes, tandis qu'inversement un flagellum peut repasser à l'état de pseudopode ».

IV. *Histologie des Vampyrelles.* — En quelques pages, l'auteur expose les résultats de ses observations histologiques sur les *Vampyrella vorax* et *Spirogyræ*. Cienk. Il fait connaître surtout la structure des noyaux et leur dispersion dans ces deux espèces. Puis il fait suivre cet exposé de considérations générales sur la classification des Vampyrelles.

Dans un cinquième et dernier chapitre (*Réponse à M. Kunstler*), M. Dangeard établit ses droits de priorité sur M. Kunstler et discute assez vivement les critiques contre ses travaux que cet auteur a publiées dans un récent opuscule intitulé : *Recherches sur la morphologie des Flagellés.*

Le mémoire de M. Dangeard est accompagné de deux planches dont les nombreuses figures représentent les diverses phases morphologiques des espèces étudiées.

E. R.

Roster, Giorgio — **Les bactéries de l'air de l'île d'Elbe.** (*Lo sperimentale*, 1889, p. 609).

L'auteur communique dans ce travail le résultat des expériences qu'il a faites, 3 mois durant, sur la richesse microbienne de l'air de l'île d'Elbe. Les îles présentent cet avantage que selon la direction du vent, elles permettent d'analyser tantôt une atmosphère nettoyée par un long passage sur l'eau, tantôt une atmosphère qui a pu se contaminer de nouveau en traversant une bande de terrain. Depuis les recherches de M. le commandant Moreau sur les atmosphères marines les plus diverses, publiées par le Dr Miquel dans les *Annuaires de l'Observatoire de Montsouris*, on connaît l'action épuratoire de la mer sur l'air; il est intéressant de voir ces recherches confirmées par les expériences de M. Roster. Nous aurions cependant quelques objections à faire au sujet de ses procédés d'analyse. M. Roster filtrait l'air (501-2784 litres) sur des bourres de verre stérilisées ou sur du sable, lavait les bourres ou le sable dans un volume connu d'eau stérilisée et comptait le nombre des germes suspendus dans cette eau au moyen d'un procédé dont s'est servi le Dr Miquel pour les dosages rapides des bactéries de l'eau. Une bande de papier gélatinisée, pesée exactement, est plongée dans l'eau à analyser et introduite ensuite dans un bocal de verre, où l'on observe le développement des colonies sur le papier. La différence de poids indique le volume d'eau analysé et il est facile, après avoir compté les colonies, de calculer la teneur en germe du volume total de l'eau. Mais ce procédé, utile pour se renseigner rapidement sur la richesse microbienne d'une eau donnée, est loin de posséder l'exactitude des autres méthodes employées à l'Observatoire de Montsouris pour le dosage régulier des bactéries de l'air (ensemencements fractionnés). Nous ne nous arrêterons donc pas ici à comparer les chiffres trouvés par M. Roster avec ceux du commandant Moreau, obtenus par des méthodes plus exactes. Disons seulement que la moyenne a été de 129 bactéries par mètre cube (maximum 288, — minimum 66). Pendant la nuit M. Roster a noté un abaissement marqué du chiffre des bactéries, qu'il attribue à la diminution ou à la cessation du vent pendant la nuit. M. Roster résume ses recherches par les conclusions suivantes :

1° Le chiffre des bactéries dans l'air d'une île, même de l'étendue de l'île d'Elbe, est beaucoup plus petit que sur le continent;

2° Les variations dans le chiffre des bactéries sont beaucoup plus considérables que dans l'intérieur des terres, attendu que les côtes reçoivent tantôt les vents de la mer, tantôt les vents de terre;

3° Le chiffre des bactéries diminue énormément quand le vent vient de la pleine mer et augmente quand il a passé d'abord sur l'île;

4° Un bras de mer peu considérable suffit pour purger d'une partie de ses bactéries le vent qui avait d'abord traversé l'île (un bras de mer de 2 kilomètres abaisse d'un tiers la teneur de l'air en bactéries) ;

5° D'autre part, une bande de terrain de peu de largeur suffit pour charger d'un certain nombre de microbes le vent de mer qui la traverse ;

6° La teneur en germes du vent augmente proportionnellement à sa vitesse ;

7° La pluie est un agent actif de l'épuration de l'atmosphère, soit par une action mécanique, soit par suite de l'humectation du sol qui empêche les bactéries du sol d'être entraînées dans l'air ;

8° Les bactéries de l'air proviennent de la surface du sol, dont elles sont détachées par l'action des courants d'air.

E. F.

M. Goesta Grotenfeldt. — **Études sur les décompositions du lait**, travail fait au laboratoire bactériologique de M. le Dr Hueppe, à Wiesbaden (*Fortschritte der Medicin*, VII, 2, p. 41).

Parmi les nombreuses altérations que peut subir le lait, il en est une qui a souvent déjà attiré l'attention des observateurs ; c'est celle qui se traduit par la coloration rouge de ce liquide. On l'a attribuée à l'action du *Microc. prodigiosus ;* cependant, cet organisme ne produit que des taches rouges sur la surface de la crème et ne colore pas le sérum. Dans du lait coloré totalement en rouge, M. Hueppe a trouvé un organisme spécial, qui possède la propriété de colorer aussi le sérum en rouge. C'est donc, selon cet auteur, ce dernier qui doit être considéré comme la bactérie du lait rouge par excellence, et il propose de l'appeler *Bacterium lactis erythrogenes.*

M. Goesta Grotenfelt a fait de cet organisme une étude spéciale dans le laboratoire M. de Hueppe, dont voici les principaux résultats.

Le *Bact. lactis erythrogenes* présente les caractères d'un bactérium. Sa longueur moyenne de 1, 0 à 1, 4 μ, et sa largeur moyenne de 0, 3 à 0, 5 μ. Les bouts sont arrondis. Dans le lait, ses dimensions sont stables ; dans le bouillon, elles varient et on en voit qui ont jusqu'à 4, 3 μ de longueur. Maintenues en chambre humide, ces bactéries n'ont point de mouvements de locomotion propre ; cependant on constate, dans le bouillon surtout, des mouvements oscillatoires. L'auteur n'a pu constater sur aucun milieu nutritif la formation d'endospores. Dans quelques préparations, cependant, les bactéries ne se colorent que partiellement, mais on ne parvient pas à

colorer ces espaces incolores par les procédés usités pour la coloration des spores. Sur plaques de gélatine, ce bacille forme de petites zooglées qui, au début, sont gris-blanche et deviennent jaunes dans la suite. Il creuse des cupules dans la gélatine, et il survient autour de celles-ci une coloration légèrement rose qui s'étend peu à peu dans la gélatine. Quand on inocule la gélatine par piqûre, les colonies qui se forment autour de cette dernière sont d'abord blanchâtres, puis jaunes. Déjà, au bout de 24 heures, la gélatine se colore faiblement en rose. Quand la gélatine est liquéfiée, les zooglées jaunes tombent au fond de la gélatine. Quand la liquéfaction n'a pas encore envahi toute la gélatine, au bout de 10-12 jours, les cultures présentent un aspect caractéristique; la partie supérieure liquéfiée est d'un rose intense ; les colonies jaune se rasssemblent à la surface de la gélatine restée solide, et la partie supérieure de cette dernière se teinte en rose. La production de la couleur rose précède donc la liquéfaction. Dans les vieilles cultures, toute la gélatine est liquéfiée et colorée en rouge. La coloration rouge est plus intense dans les cultures tenues dans une obscurité complète ; dans les cultures exposées à la lumière elle ne se produit pas. Sur gélose, ce microorganisme forme un gazon jaunâtre, humide et brillant. Cette couleur jaune n'est pas influencée par la lumière. Sur pomme de terre, les gazons sont blancs-gris, puis jaunes. La pomme de terre tout entière prend, dans la suite, une légère teinte jaune-rouge. Le bouillon ne se colore qu'en jaune. Ensemencé dans du lait stérilisé, ce bactérium coagule la caséine. Il se forme peu à peu, sous la couche de crème une zone de sérum qui s'étend de plus en plus; au début, elle est comme d'un rouge sale, ensuite d'un rouge-brun, puis rouge comme du sang. La température la plus favorable est celle de 28-35°, et l'alcalinité du milieu favorise l'action de ce microbe. Il faut donc distinguer entre le pigment jaune que produisent ces bactéries sur les différents milieux et la couleur rouge qui se forme dans le substratum même. Le pigment jaune et la matière colorante rouge sont tous deux insolubles dans l'eau, l'alcool, l'éther, le chloroforme et le benzol. L'analyse spectrale de la matière rouge donne deux raies intenses dans le jaune et dans le vert, et une forte absorption dans le bleu foncé. Dans des solutions très concentrées, on constate aussi une faible raie dans le rouge.

Les bactéries du lait rouge se colorent facilement avec les couleurs d'aniline, et paraissent n'exercer aucune action pathogène.

Dans l'industrie laitière, cet organisme est peu à craindre, car il trouvera rarement dans le lait les conditions d'alcalinité qu'il réclame, en raison de l'ubiquité des organismes producteurs d'acide qui se développent plus vite que lui et qui, en créant un milieu acide, le rendent impropre à la culture du *Bact. lactis erythrogenes*.

E. F.

Gösta Grotenfelt. — **Sur la virulence de quelques bactéries productrices de l'acide lactique** (*Fortschritte der Medicin*, 1889, n° 4, p. 121. Travail fait dans le laboratoire bactériologique du Dr Hueppe, à Wiesbaden).

On peut, par des procédés de culture, augmenter ou diminuer la virulence des bactéries pathogènes, mais on n'a guère, jusqu'ici, recherché jusqu'à quel point la culture peut modifier les propriétés des saprophytes, l'on ne possède sur ce sujet que quelques observations de MM. Fitz et Hueppe sur les variations de virulence des bactéries et de M. Duclaux et Dünnenbeyer, touchant les saccharomycètes. Dans le mémoire dont nous donnons le titre, l'auteur s'occupe spécialement de quelques-unes des nombreuses bactéries qui produisent de l'acide lactique et recherche jusqu'à quel point cette fonction peut être modifiée par la culture. Pour cela, M. Grotenfelt cultiva 2 bacilles et 2 bactériums produisant de l'acide lactique, qu'il nomme *Bac. acidi lactici*, I et II, et *Bact. acidi lactici*, I et II, pendant un certain temps dans du lait et sur de la gélatine sans sucre dans lesquelles elles ne peuvent, par conséquent, pas fabriquer les mêmes produits que dans le lait, et compara plus tard l'activité de ces différentes cultures en les ensemençant dans du lait stérilisé et coloré par le tournesol. Cette méthode, due à M. Naegeli, qui l'employa déjà en 1879, permet de juger de l'intensité de la production d'acide lactique, car la couleur bleue se change en rouge à mesure que l'acide se forme, coloration qui disparaît quand le lait se coagule pour réapparaître plus tard en suite d'une réoxydation spontanée. On peut donc, de la rapidité avec laquelle se passent ces phénomènes, conclure au plus ou moins d'activité des cultures. De ces expériences, M. Grotenfelt tire les conclusions suivantes en ce qui concerne les bactéries produisant de l'acide lactique :

1° La virulence diminue à un haut degré quand on cultive les bactéries pendant plusieurs générations sur de la gélatine sans sucre, dans laquelle elles ne peuvent pas provoquer le dédoublement spécial qui est une de leurs fonctions ;

2° La virulence reste la même ou est même augmentée quand on les cultive sans interruption dans le lait, dans lequel elles peuvent provoquer le dédoublement et la fermentation qui leur sont propres ;

3° La possibilité et la facilité relatives qu'il y a d'influencer la virulence par de simples procédés de culture, c'est-à-dire dans des conditions paraissant pouvoir se rencontrer dans la nature, prouve que les microbes producteurs de la fermentation lactique, tels qu'on les rencontre dans l'industrie laitière, doivent être considérés comme une forme modifiée et active de saprophytes vulgaires ou comme une race créée par la culture. E. F.

Dr A. Monti. — **De l'étiologie du rhumatisme articulaire aigu** (*Riforma medica*, mars 1889).

Dans un cas de rhumatisme articulaire aigu, précédé d'une pneumonie, pleuro-péricardite et endocardite, l'auteur a trouvé dans l'exsudat, recueilli avec les précautions antiseptiques nécessaires, dans l'articulation malade, un microorganisme qui, par son aspect microscopique et ses propriétés biologiques et pathogènes (pour les lapins et les souris blanches), lui a semblé être identique avec le *Diplococcus pneumoniæ* de MM. Fraenkel et Weichselbaum et le *Meningococcus* de MM. Foa et Bordoni-Uffreduzzi. Ce résultat est une preuve de plus en faveur de l'hypothèse de la nature infectieuse de certains rhumatismes, à l'appui de laquelle nombre de faits analogues ont déjà été cités.

E. F.

Prof. Dr Thoma. — **Sur des organismes parasitaires spéciaux dans les cellules épithéliales des carcinomes** (*Forschritte der Medicin*, VII, p. 413).

L'auteur décrit des corpuscules qu'il a trouvés dans les cellules épithéliales du carcinome de l'homme et qui lui paraissent devoir être considérés comme des parasites, attendu qu'ils diffèrent absolument des éléments cellulaires que l'on rencontre chez l'homme. Ce sont des organismes unicellulaires, d'un diamètre de 4-15 μ que l'on peut colorer avec l'hæmatoxyline, l'éosine, le safran et le carmin à l'alun. Ils sont composés de protoplasma et d'un noyau, et quelquefois d'un nucléole. Ils sont ronds, mais irréguliers, plus souvent ovales ou de la forme des navicelles. Ils se trouvent seuls ou par groupes de 4-6 dans les noyaux des cellules épithéliales. Ces dernières ne se colorent alors plus que difficilement et leurs noyaux se déforment. L'auteur nous promet une étude plus détaillée de ces parasites, étude dont il sent la nécessité avant de pouvoir affirmer que l'on se trouve ici en présence du microorganisme, cause du cancer. Nous ne pouvons que nous associer aux prudentes réserves de l'auteur, d'autant plus qu'il dit lui-même avoir rencontré les corpuscules en question *très fréquemment*. S'ils étaient, en réalité, la cause du carcinome, il les aurait, semble-t-il, *toujours* trouvés.

E. F.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel-de-Ville), *Avril* 1890

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
			TEMPÉRAT.	PLUIE —	VENT			
	BACTÉRIES	MOISISSURES	moyenne	Hauteur en millimèt.	Direction moyenne	Force moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 14, du 30 Mars au 5 Avril 1890 . .	3.600	200	9° 6	0mm,0	NE	17km 2	208	178
N° 15, du 6 Avril au 12 » » . .	3.200	1.000	6 ,9	4 ,7	NW	13 8	166	195
N° 16, du 13 » au 19 » » . .	2.670	1.670	10 ,2	16 ,8	E	14 1	161	227
N° 17, du 20 » au 26 » » . .	1.400	400	9 ,9	23 ,3	SW	16 6	168	191
N° 18, du 27 » au 3 Mai » . .	2.330	500	11 ,9	3 ,8	SE	9 6	163	177
MOYENNES ET TOTAUX	2.640	754	9°,7	48mm,6	»	14km3	866	968
ANNÉE MOYENNE	4.520	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques*, sont comprises: les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts

Avril 1890. Bactéries = » Moisissures = » Température = »

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Avril 1890. Bactéries = 176 Moisissures = 158 Température = 9°,7

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Avril* 1890

DESIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Avril 1890	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	860	705	»	Canalis. = 2.900 bactéries
» de la Dhuis à Ménilmontant.	1.000	1.890	»	Canalis. = 1.375 »
» de l'Ile du Ramier (Toulouse).	1.470	»	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	12.000	28.650	11°,3	»
» de la Seine à Ivry	32 000	27.340	11°,5	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz . . .	62.000	31.060	»	Hauteur = 1m,09
» de la Seine au pont de l'Alma	55.000	77.525	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	12.500	36.190	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Eau du puits Ané à Alfort	24.000	»	»	»
» du puits Princesse à Paris.	1.600	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Eau du drain de Saint-Maur	2.350	2.110	»	»
»	»	»	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	9.415.000	13.315.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est	24.000.000	19.440.000	»	»
» » traitée à Bondy.	»	74.250	»	»

PUBLICATIONS RÉCENTES

PROTOZOAIRES

Bergh R. S. — Recherches sur les noyaux de l'*Urostyla grandis* et de l'*Urostyla intermedia*, n. sp. (*Archives de Biologie*, t. IX, fasc. IV, p. 497-514, pl. XXXV).

Massart Jean. — Sensibilité et adaptation des organismes à la concentration des solutions salines (*Archives de Biologie*, t. IX, fasc. 4, p. 515-570).

Schuberg (Dr). — Zur Kenntniss des *Stentor cœruleus*. (*Zoologischer Jahrbuch*, *Bd.* IV, p. 197-238, taf. XIV).

Billet (Dr). — Contribution à l'étude de la morphologie et du développement des Bactériacées (*Bulletin scientifique de la France et de la Belgique*, publié par A. Giard, t. XXI, 1890, p. 1-288, pl. I-IX).

BACTÉRIOLOGIE

S. D. Machnoff. — Sur le passage des bactéries à travers la peau à la suite de frictions (*Ruskeija medicina*, 1889, n° 39, en russe).

Prediöl. — Untersuchungen zur Aetiologie der Peritonitis. Recherches sur l'étiologie de la péritonite (*Münchener med. Wochenschrift*, 1890, n° 2).

Prof. B. Grassi et prof. R. Feletti. — Ueber die Parasiten der Malaria. Sur les parasites de la malaria (*Centralbl. für Bakteriol. u. Parasitenkunde*, VII, p. 430).

Dr Pietro Canalis. — Intorno a recenti lavori sui parasiti della Malaria. Sur les travaux récents concernant les parasites de la malaria (Lettre au Président de l'Académie de médecine de Rome, 1890, chez Perelli).

L'Éditeur-Gérant,
Georges CARRÉ

Tours. — Imprimerie DESLIS FRÈRES

ANNALES

DE MICROGRAPHIE

RECHERCHES MORPHOLOGIQUES ET BIOLOGIQUES SUR UN MICROORGANISME DE L'ATMOSPHÈRE, LE *STREPTOTHRIX FOERSTERI*-COHN

Par le Dr G. GASPERINI

ASSISTANT A L'INSTITUT D'HYGIÈNE DE L'UNIVERSITÉ DE PISE

J'ai souvent rencontré dans l'air des habitations, où on la trouve pendant la saison chaude, et, principalement pendant les périodes de sécheresse, une espèce que j'ai cru pouvoir identifier avec le *Streptothrix Foersteri*, brièvement décrit par Ferdinand Cohn en 1875 (1). Comme il s'agit d'un microorganisme qui, normalement, n'est pas pathogène, son étude et la constatation de sa présence dans l'air libre et dans l'air confiné n'a guère d'importance au point de vue de l'hygiène. Cependant, les recherches sur les germes des organismes suspendus dans l'atmosphère peuvent, sans aucun doute, soit en contribuant à dévoiler le mécanisme de la transmission de certaines maladies, soit en fournissant des matériaux utiles dont la microbiologie peut se servir en vue d'établir une classification basée sur des criteriums morphologiques, biologiques et phylogénétiques, rendre de réels services à l'hygiène. Cette science, en effet, qui a pour principal objet d'étudier les *substrata* de la vie, a aussi grand intérêt à connaître la biologie des

(1) Cohn, *Untersuchungen über Bakterien. Beiträge zur Biologie der Pflanzen*: Bd. I, 3, pages 186-188 ; Pl. v, fig. 7, Breslau, 1875.

innombrables microorganismes qui peuplent ces *substrata*, et, par conséquent, elle ne saurait se refuser à la tâche, fort importante, d'établir leurs distinctions spécifiques d'une façon rationnelle et soigneuse, tâche qui rencontre souvent des difficultés notables.

Pour établir ces distinctions il est toutefois évidemment besoin d'une connaissance étendue et approfondie de la valeur des caractères et de l'ensemble des particularités dont nous pouvons déduire la notion vaste et complexe de l'espèce, sur laquelle repose tout progrès dans la microbiologie systématique ; aussi m'a-t-il semblé que le *Streptothrix Foersteri* méritait à ce point de vue d'être l'objet d'une étude plus approfondie.

Le stade filamenteux de ce schizophyte a été observé par Cohn dans des concrétions du canal lacrymal inférieur de l'homme, dont l'examen lui avait été demandé par M. R. Foerster, le 15 avril 1874. Déjà avant Foerster, A. de Graefe, en 1855, et d'autres ophthalmologistes avaient rencontré dans la même région des concrétions similaires, constituées d'après de Graefe par des éléments de favus, et selon Waldeyer, Cohnheim et Leber par des éléments de *Leptothrix buccalis*, la seule espèce qui soit mentionnée aujourd'hui comme corps étranger pénétrant accidentellement dans les conduits lacrymaux. On ne peut savoir si, dans la majorité de ces cas, il s'agissait du Streptothrix et il en résulte que les questions relatives à son cycle évolutif, à son habitat et à ses propriétés pathogènes sont restées jusqu'ici complètement sans solution.

Ainsi que je l'ai dit, ce microorganisme se trouve dans l'air des habitations. Je l'ai rencontré pour la première fois en automne 1887 en pratiquant des analyses bactériologiques à deux mètres de hauteur au-dessus du sol de quelques rues. En juin de l'année suivante, il reparut à l'improviste dans l'air et je pus l'isoler de cultures sur gélose qui avaient été infestées par différents microorganismes. A la surface des *substrata*, sur lesquels il était apparu spontanément, il avait terminé ses phases évolutives et se présentait sous l'aspect caractéristique de poussière blanche comme de la farine raffinée, tantôt éparse d'une manière irrégulière, tantôt produisant une incrustation ho-

mogène, d'épaisseur variable, mais disposée le plus souvent de manière à former des dessins circulaires. Ne voyant pas apparaître sur les plaques faites d'après la méthode de Koch ces incrustations blanches, attendu que même en recourant à des dilutions très fortes, les bacilles liquéfiants desquels je cherchais à séparer le Streptothrix, envahissaient toute la surface de la gélatine, tenue à 20°, vers les 4e et 5e jours, j'en conclus d'abord que je n'arriverais pas à mon but avec cette méthode. J'obtins en revanche des cultures pures en ensemençant plusieurs fois de suite sur de l'agar de petits fragments de la couche blanche superficielle que je recueillais soigneusement au moyen d'une petite spatule de platine dans les endroits où l'incrustation était le plus élevée et homogène. Après cela, j'acquis la conviction que les cellules constituant la partie blanche, farineuse des cultures de ce genre, bien que morphologiquement elles pussent être prises pour les types de différents schizophytes, appartenaient au contraire à la végétation aérienne d'un seul microorganisme. Pour établir la connexité et la valeur morphologique des formes multiples que j'avais examinées, je cherchai à suivre leur cycle évolutif sur divers milieux, en variant les conditions physico-chimiques et en les observant a diverses périodes de leur développement. Ce n'est qu'après avoir soumis cette espèce à une série innombrable d'ensemencements que j'ai pu retracer les caractères distinctifs suivants.

Caractères morphologiques

I. — Manière dont se comporte le *Streptothrix Foersteri* dans les différents milieux de culture

Sur les *plaques* de gélatine nutritive le *Streptothrix Foersteri* se développe très bien à la température de la chambre. Pour bien suivre le développement des colonies depuis leur phase initiale, il est nécessaire d'avoir soin de distribuer les spores aussi isolément que possible, attendu qu'elles ont une tendance à rester réunies en-

semble. Lorsqu'on observe par transparence les plaques, tenues environ 36 heures à 15°-18°, en faisant arriver la lumière sous différents angles d'incidence, on commence à distinguer dans la gélatine des nuages petits et délicats. Ils ont l'apparence de flocons ténus et légers, incolores, avec un point central plus distinct parce qu'il est plus opaque ; leur périphérie se perd dans la gélatine en se dégradant insensiblement. Les bords de ces colonies ne se distinguent pas, même avec un grossissement de 80 diamètres. Et avec ce grossissement, non seulement les détails échappent, mais il n'est même pas possible de discerner les colonies à moins d'employer un diaphragme aussi petit que possible. A un stade plus avancé de leur développement, des différences commencent à se manifester entre les colonies de la surface et celles qui sont situées dans la profondeur. Effectivement, vers le 5e jour à 18°-20°, les colonies superficielles plus grandes, d'un diamètre d'environ 1 millimètre ou un peu plus, sont élevées, ont des contours nets, régulièrement ronds, et une teinte blanche tirant sur le jaune ; leur surface est translucide, généralement convexe et humide. D'autres, au contraire, parmi celles qui ont atteint un plus grand développement ont une surface plus opaque, qui ne réfléchit pas la lumière ; leur partie centrale accuse aussi un relief plus ou moins accentué dont la teinte est plus sombre. Elles ont ainsi l'aspect d'un mamelon microscopique ; d'habitude, c'est sur les bords de ces colonies que la dépression de la gélatine est le plus accentuée, dépression qui récupère peu à peu son niveau dans un rayon d'environ 1 millimètre. Les colonies situées dans la profondeur qui sont d'autant plus développées qu'elles sont plus près de la surface, ont aussi une apparence floconneuse, légère, mais plus délicatement nuancée et une forme moins régulière par suite de la présence de quelques filaments assez marqués s'étendant dans plusieurs directions. Les 6e et 7e jours, la partie plus saillante ou centrale des colonies superficielles commence à prendre une teinte blanchâtre et claire qui se propage rapidement au reste de la surface libre de la colonie. De cette façon la gélatine se trouve constellée de colonies, en partie régu-

lièrement hémisphériques, en partie mamelonnées, qui se distinguent par leur coloration.

Les circonstances qui peuvent faire varier l'aspect typique des cultures sur plaques tiennent surtout à la densité et à la fusibilité de la gélatine, mais on ne saurait toutefois négliger les différents degrés d'adaptation que ce microorganisme acquiert en vivant pendant plusieurs générations sur ce milieu. En effet, pour obtenir vers le 3e jour des colonies relevées en tête d'épingle brillantes, à surface lisse et à contours nets, il faut un milieu gélatinisé à 10 p. 100 au moins et qui, bien préparé, conserve toute sa fermeté. Les colonies ne peptonisent alors la gélatine qu'assez tard et avec une extrême lenteur après avoir pendant plusieurs jours présenté un aspect blanc velouté. A ce moment, leur surface peut montrer, entre les particularités déjà notées, à la place du mamelon, c'est-à-dire dans leur centre, une dépression plus ou moins marquée infundibuliforme. Lorsqu'on fait usage d'une gélatine moins dense et plus facilement peptonisable, la dépression manque d'habitude, les colonies sont moins saillantes et leurs contours toujours moins distincts. Quand la gélatine est liquéfiée, ce qui a lieu assez longtemps avant la formation des spores, les colonies tombent au fond et ne présentent jamais leur coloris blanc. Dans des conditions un peu moins défavorables, les colonies superficielles, tout en suivant la gélatine dans son effondrement, laissent surgir de la partie centrale déprimée un petit mamelon plus développé qu'à l'ordinaire et qui, devenant rapidement peu apte à être imbibé par la gélatine liquéfiée, fait flotter la colonie entière, qui peut ainsi librement donner naissance à ses spores.

Pour faciliter l'examen microscopique des colonies décrites, il faut employer de la gélatine colorée avec une solution aqueuse de bleu de méthyle ou avec le liquide de Loeffler. Les filaments constituant les colonies se colorent alors en un bleu intense et peuvent être distingués même à un faible grossissement. En effet, avec un grossissement de 80 diamètres on distingue dans les colonies bien développées un point central d'un bleu intense dans lequel on ne voit aucun détail de structure, tandis que vers la périphérie on distingue un réseau très serré de filaments excessivement

minces qui, en rayonnant de tous côtés, s'isolent de plus en plus. Les colonies tout à fait superficielles ont une conformation circulaire plus régulière ainsi que le prouve la distribution plus homogène des filaments périphériques. Dans les colonies situées dans la profondeur, les filaments, bien que distribués également sur tous les points, sont réunis ensemble comme des mèches de cheveux onduleuses et disposées en rayons (*fig.* 5, pl. VI). Lorsqu'on examine à un grossissement de 150 diamètres la partie périphérique d'une colonie superficielle on voit se détacher de l'épais réseau de longs filaments isolés qui s'éloignent en décrivant des courbes irrégulières, saillantes, et le plus souvent serpentantes (*fig.* 6, pl. VI). En observant leurs extrémités avec un grossissement de 1,000 diamètres, on aperçoit de véritables ramifications dont le diamètre transversal est égal à celui des filaments originaux dont elles partent à des distances très variables l'une de l'autre.

Dans les *cultures par piqûres dans la gélatine*, on distingue déjà après 36 heures à 20°, les traces du fil de platine marquées en blanc, lorsqu'on examine la culture d'en haut (par réflexion). Selon la quantité de spores introduites dans la piqûre, on obtient le développement de flocons plus ou moins distants entre eux et il en résulte, par conséquent, que dans l'accroissement ultérieur, les colonies se trouvent diversement réunies ou isolées. Vers le cinquième jour, les flocons restés plutôt opalescents envoient des mycéliums d'autant plus étendus et délicats qu'ils sont plus près de la périphérie et qui, disposés horizontalement, constituent autant d'étages parallèles. Après environ 12 jours, la culture a régulièrement une forme conique par suite de l'expansion plus grande des ramifications superficielles ou voisines de la surface, comparées à celles qui sont situées dans la profondeur qui se voient encore à peine. A la surface de la gélatine il se forme régulièrement une croûte en relief dans laquelle la sporulation a lieu vers le 7e jour, quand les circonstances sont favorables, ce qui amène la liquéfaction de la gélatine quelquefois assez vite, quelquefois après un mois seulement ou plus. Cette liquéfaction se traduit soit par l'effondrement de la colonie superficielle qui par suite de la compression exercée sur celles situées plus bas se

trouve au-dessous du niveau de la gélatine restée solide, soit par le fait qu'en penchant les tubes dans différents sens on voit osciller dans la gélatine liquide la culture en forme de cône resté d'une part adhérent à la base de la colonie superficielle et en bas à la gélatine encore solide dans laquelle il s'enfonce. Ceci est le cas des cultures qui se sont développées d'une manière continue le long de la piqûre, ainsi qu'on le voit sur la photographie 1 de la planche V. Quand, au contraire, les étages sont séparés, ils s'inclinent en bas et l'extrémité des filaments est légèrement recourbée en haut (photographie 2, planche V). Tant dans les tubes dans lesquels la liquéfaction partielle ou totale de la gélatine s'est produite rapidement, que dans ceux dans lesquels cette liquéfaction n'est devenue partielle qu'au bout de plusieurs mois, les filaments qui se trouvent au-dessous de la colonie superficielle sont toujours désagrégés de manière à former un dépôt qui laisse limpide la gélatine liquéfiée.

Il importe de mentionner les principales variations que j'ai constatées dans la longue série des cultures que j'ai faites sur de la gélatine fraîche, de concentration et de réaction diverse, ainsi que dans les cultures abandonnées à elles-mêmes pendant longtemps dans un milieu sec. Dans de la gélatine desséchée au point de se fendiller lorsqu'on y pratique une piqûre, il ne se développe qu'une croûte très mince qui devient assez vite blanche. Lorsqu'on emploie un fil de platine un peu fort, la piqûre reste très aérée, la culture est en forme de manchon, avec spores au milieu et d'un aspect tout autre que d'habitude.

Dans les ensemencements pratiqués avec les premières cultures pures que j'avais obtenues sur une gélatine assez vieille, les houppes coniques caractéristiques se sont formées d'abord très lentement ; la gélatine s'est liquéfiée plus ou moins, mais dans quelques tubes même après 9 mois il n'y avait pas encore de sporulation superficielle. Après ce temps, ou bien l'on apercevait des conglomérats de mycéliums d'une couleur plus jaune que la gélatine et nageant dans celle-ci près de la surface liquéfiée jusqu'à une petite profondeur, ou bien il se formait une pellicule jaunâtre superficielle, luisante, susceptible de se reformer,

après sa précipitation au fond du tube dans la gélatine fluidifiée, sans avoir toutefois présenté aucun vestige de sporulation. Quand on voit après plusieurs mois, des glomérules submergés dans le petit espace superficiel de la gélatine liquéfiée, ceux-ci représentent les mycéliums situés au-dessous de la surface, les seuls qui se soient bien développés. Si, au contraire, il se forme dès le début une vraie pellicule superficielle entièrement ou partiellement en voie de sporulation, la culture peut prendre l'aspect le plus varié. La surface peut alors être régulièrement convexe, comme dans la photographie 2, ouprésenter des sillons irradiés ou des ondulations disposées d'une façon tout à fait irrégulière, ou bien elles peuvent aussi, par la flexion de la pellicule, former des sortes d'alvéoles à l'intérieur desquelles la sporulation se fait librement, sans qu'ils se remplissent de gélatine liquéfiée dans laquelle ils nagent garantis pendant des mois par l'imperméabilité de leurs parois.

Malgré cela, le type des colonies normales, ainsi qu'il a été décrit, se conserve d'une façon assez égale et caractéristique.

Pour les examiner au microscope il est préférable de choisir des colonies de 12 jours à 20° (photographie 1, pl. V.). On brise le tube, on met la gélatine contenant la culture dans l'alcool, puis dans l'alcool absolu et l'éther, on monte dans la celloïdine et on pratique des coupes horizontales avec le microtome. On les colore avec les couleurs basiques d'aniline et le substratum est décoloré par un bain d'eau prolongé. Il reste alors des points plus colorés avec une zone plus claire à l'entour et une autre zone concentrique plus foncée comme on le voit dans la figure 4, pl. VI. On place les coupes sur le porte-objet, on les dessèche lentement et l'on monte dans le baume de Canada ou la résine de Dammar, dissous dans le xylol.

Un grossissement de 450 diamètres suffit pour reconnaître distinctement que les points centraux plus colorés et la zone périphérique correspondent aux endroits où les filaments sont le plus serrés. Ceux-ci s'échappent tantôt droits, tantôt recourbés ou en forme d'hélice, se ramifient et s'entrelacent de la manière la plus variée (*fig.* 7, pl. VI.)

Sur gélose, que l'on a laissée se solidifier dans le tube

sur un plan incliné, les cultures tenues à 37° prennent un développement luxuriant. Pendant la première phase les colonies n'offrent rien de caractéristique. Elles sont relevées, incolores, à bords nets, avec une surface luisante, d'un blanc jaunâtre, et peuvent être confondues avec celles de maints schizophytes. Vers le 3e ou 4e jour, elles offrent un aspect mamelonné comme sur la gélatine, et, plus rarement, la dépression centrale. Plusieurs restent régulièrement convexes et présentent des zones concentriques dans lesquelles s'établit une sporulation complète (*fig.* 1, pl. VI). La surface de développement qui résulte de la fusion complète des colonies présente un aspect tellement varié que l'on ne peut en donner qu'une idée approximative. Les différences principales dépendent de la quantité de glycérine et d'eau contenues dans la gélose que nous avons l'habitude de préparer avec du sucre et de la glycérine dans des proportions variables, bien que ces substances ne soient pas nécessaires à la culture du Streptothrix qui donne des spores même plus vite sur la gélose simple. Sur la gélose glycérinée à 7 p. 100 et riche en eau on peut obtenir un vigoureux développement des colonies (photographie 3, pl. V) ; mais celles-ci restent longtemps luisantes, sont comme de la cire et ne présentent pas le moindre vestige de sporulation, qui dans quelques tubes apparaît du 4e au 7e mois. Dans les tubes moins riches en eau et en glycérine, les colonies donnent déjà des spores entre le 6e ou 8e jour, deviennent très blanches et se conservent telles pendant longtemps (photographie 4, pl. V).

Dans quelques cultures il se forme une pellicule plissée, tout à fait semblable à celle qui résulte du développement abondant de certains bacilles (bacilles Zopfii, *subtilis,* etc.), et à la superficie de laquelle on voit apparaître, après 3 ou 4 mois, et même plus, le coloris caractéristique de la sporulation. Les photographies 5 et 6 représentent 2 tubes dans lesquels un ensemencement, provenant de la même culture, avait été fait le 12 novembre dernier. Tous les deux ont été maintenus dans des conditions physiques identiques. Dans le premier, riche en humidité et en glycérine, la formation des spores a commencé seulement depuis quelques jours dans la partie la plus élevée, où le substratum est

moins épais et plus sec ; dans le second, la surface était déjà dès le 20e jour comme elle est maintenant, en pleine sporulation, excepté dans la partie du haut, adhérente au verre, qui s'est développée peu à peu. Dans cette culture, comme dans toutes celles qui forment leurs spores rapidement et abondamment, on voit la surface très blanche parsemée de gouttelettes microscopiques limpides et brillantes d'*eau de condensation,* qui se réunissent ensuite en gouttes plus grosses ressemblant à de la rosée. Elles prennent plus tard une couleur ambrée qui, avec le temps, devient plus foncée. La plus grande partie de ces gouttes disparaissent parce qu'elles sont à leur tour recouvertes par les filaments sporifères dont elles ont favorisé le développement.

Il n'est pas rare de rencontrer des cultures sur gélose abondamment glycérinée qui ne donnent jamais de spores. De cet extrême on passe par degrés à celles qui ne donnent des spores que quand on favorise la dessication du substratum et à celles qui après une semaine sont déjà complètement blanches. La coloration des cultures qui ne forment pas de spores est le plus souvent d'un jaune identique à la gélose, mais plus foncé. Dans les ballons d'Erlenmeyer chargés de gélose, on peut avoir des colonies superficielles qui, après 14 mois à la température ambiante, ont l'aspect que montre la figure 2, pl. VI.

L'examen microscopique montre que les filaments plus superficiels des colonies sporigènes dont j'ai aussi fait des coupes au microtome, sont plus gros et plus faciles à colorer que ceux situés dans la profondeur, qui sont très minces et pâles. Les éléments cellulaires constituant la couche blanche sont polymorphes.

Sur le sérum de sang solidifié ou liquide, préparé avec du sang de bœuf, ou pris directement dans une hydrocèle, le Streptothrix se développe très bien et y produit assez rapidement ses spores. Le sérum solidifié sur un plan incliné est lentement liquéfié quand la colonie a déjà atteint son entier développement.

Sur du pain noir à réaction acide assez prononcée, le développement est très lent. Dans le ballon que j'ai dessiné (*fig.* 3, pl. VI) la colonie sporigène a mis, pour atteindre la grandeur indiquée, du 9 avril de l'année dernière au 15 juil-

let ; pendant ce temps la masse s'est détachée des parois et s'est crevassée par suite de la perte d'eau favorable à la production des filaments sporigènes, qui finalement se sont formés aussi sur la partie du pain en contact avec le fond du matras. Ces cultures ne donnent pas toujours un résultat positif et satisfaisant.

Sur les pommes de terre cuites, le Streptothrix ne pousse qu'avec difficulté. Cependant je l'ai vu s'y développer spontanément. En général j'ai remarqué que l'emploi des substances amylacées ne constituait pas un aliment favorable au développement de ce microorganisme.

Sur l'albumine d'œuf coagulée, le développement est lent. La formation des spores a lieu là où l'albumine revêt d'une couche légère les parois du tube de culture. Ce substratum est d'un emploi assez incertain.

Dans les milieux liquides, la façon de se comporter du Streptothrix varie selon que les spores peuvent germer à la surface ou dans la profondeur du liquide et aussi selon le pouvoir nutritif des milieux employés.

Dans le bouillon de viande peptonisé, on obtient un développement rapide et riche. Lorsque les spores, arrivées aux bords du liquide, prennent en germant quelque adhérence avec les parois du tube on obtient des colonies superficielles qui envahissent toute la surface du bouillon et la recouvrent d'une pellicule tout entière en voie de sporulation. Dans ce cas, le substratum prend une teinte jaune ambrée d'autant plus foncée qu'on se rapproche davantage de la pellicule. Quand les spores se développent dans la profondeur du liquide, il se produit de petits flocons délicats, soit dans le fond du tube, soit adhérents à la surface interne des parois du tube. Ces petits flocons deviennent toujours moins distincts après que la surface du bouillon s'est recouverte de la pellicule, jusqu'à ce qu'ils finissent par former un dépôt, analogue à celui des filaments anaérobies de la gélatine. Dans quelques tubes de bouillon non alcalinisé avec du carbonate de soude, les spores qui, dès le début, s'étaient seulement développées dans le fond du tube produisirent des filaments lâchement entrelacés ; au bout de six mois, ces derniers atteignirent la surface du liquide et y formèrent leurs spores de la ma-

nière la plus caractéristique et seulement dans des aires circonscrites.

Dans les solutions minérales semblables à celles de Pasteur, mais préparées avec la levure de *Leghbi*, il forme des colonies superficielles assez étendues, à bords réguliers et circulaires, avec les zones concentriques caractéristiques et fournit une sporulation complète.

Dans l'eau distillée stérilisée il ne se développe absolument pas. Lorsqu'on ensemence des parcelles de la pellicule sporigène d'une culture sur gélose dans de l'eau de source stérilisée et qu'on les examine après quelques mois, on voit qu'elles ont augmenté de volume sous forme de petits flocons moelleux. Dans cette augmentation de volume, il est impossible de faire la part qui revient à la modification de l'état des filaments ou qui est due à l'accroissement même de ces filaments ; mais bien qu'on ne puisse exclure celui-ci absolument, il n'est certainement pas très manifeste. De telles cultures dans l'eau de source montrent sous le miscroscope des particularités tout à fait remarquables concernant le processus de la sporulation du Streptothrix.

II. — Structure et cycle évolutif.

Si l'on observe dans une goutte pendante la germination des spores recueillies sur de la gélatine, on remarque qu'elles donnent naissance à leurs extrémités, ou plus souvent à un seul pôle, à un filament unique sans cloisons, se ramifiant à une distance variable. Il s'agit donc d'un élément cellulaire qui, dans des conditions favorables, émet des filaments minces dans lesquels il n'est pas possible de discerner aucun détail de structure. Même avec un grossissement de 1,700 diamètres on ne peut distinguer les parois des filaments, soit à cause de leur épaisseur insignifiante, soit parce que leur indice de réfraction est identique à celui du protoplasme qui est très réfringent, hyalin et homogène. A mesure que les filaments récemment formés s'allongent et se ramifient, ils s'entrelacent de sorte qu'on ne les voit isolément que dans la partie plus périphérique de la colonie. Leur diamètre transversal est

d'environ 1 μ. Les ramifications conservent cette dimension au moment même ou elles naissent sur les parois latérales du filament. Comme il n'est pas possible de suivre la nouvelle formation des spores sur les filaments aériens, attendu que ceux-ci partent de la portion plus épaisse de la colonie, il est nécessaire d'avoir recours à une technique délicate, par suite de la grande facilité avec laquelle se perdent les détails que présentent les portions des filaments qui offrent le plus d'intérêt.

Il résulte d'examens répétés faits avec des cultures sur bouillon et gélatine, depuis peu en voie de sporulation, que les filaments qui partent du mycélium horizontal pour arriver à l'air libre augmentent légèrement de volume et atteignent le diamètre transversal de 1,3 à 1,7 μ. Cette augmentation n'est pas toujours bien visible, mais il est constant que dans cette portion terminale le protoplasme devient plus réfringent et fixe mieux les couleurs d'aniline, il est donc prudent de n'employer ces couleurs que fortement diluées. Dans ces filaments, où s'est, pour ainsi dire, concentrée l'activité vitale du microorganisme, il se produit ensuite comme une condensation du protoplasme rajeuni en de petits points qui deviennent de plus en plus nets et prennent une forme plus déterminée. Ainsi les filaments paraissent divisés comme un *Oïdium*. En général, on observe que là où le protoplasme commence à se diviser en fragments ou articles cylindriques, les plus longs prédominent. Indépendamment ou à la suite de la scission successive de ces derniers, on passe à des fragments plus courts, isodiamétriques à égale distance l'un de l'autre qui, après s'être appropriés la paroi du filament devenu invisible, s'arrondissent et deviennent toujours plus libres jusqu'au point d'être transportés par un léger remous de l'air. Les variations inhérentes à la structure intime des filaments sporigènes qui se forment normalement dans le bouillon de viande et dans la gélatine, se voient dans les figures 1 et 2 de la planche VII. Je n'ai pas pu m'assurer s'il existe des ramifications dans la partie oïdiforme.

Les cloisons font toujours défaut quand il s'agit de cultures jeunes et obtenues dans des conditions normales.

Sur gélose, le processus de la sporulation est fondamen-

talement identique à celui observé dans le bouillon ou la gélatine. Toutefois, les filaments aériens n'ont pas toujours l'extrémité libre qui se continue en une seule chaîne de spores, car ils peuvent aussi donner naissance à deux gemmes latérales. Les spores sont également de forme plus variée, en sorte que quand on examine, quelque temps après son développement, la croûte blanche qui s'est formée sur la gélose, on croirait avoir sous les yeux une culture de bactéries fortement impure (*fig.* 3, pl. VII).

La faculté germinative, et, par conséquent, la qualité de spores est réservée seulement aux éléments terminaux devenus incapables de donner lieu à une nouvelle scission.

A la superficie de quelques colonies qui s'étaient développées spontanément, il y a environ un an, dans un liquide sucré déjà fermenté, j'ai eu l'occasion d'observer des spores en chaînettes qui, en raison de leur disposition et de leurs dimensions (1 à 1, 5 μ.) auraient pu être prises pour un Streptococcus. Les colonies avaient l'aspect typique du Streptothrix. Dans la goutte pendante j'ai pu assister à leur germination après environ 24 heures, tandis que les spores des jeunes cultures germent ordinairement plus vite (8-14 heures), quand elles sont tenues dans des conditions de température identiques, c'est-à-dire à 20°.

Je passe sur les particularités inhérentes au mycélium et aux filaments fertiles que j'ai observées dans diverses conditions et dans différents milieux. Il convient toutefois de parler de l'examen des cultures dans l'eau de source dont j'ai déjà dit quelques mots. Lorsqu'on recueille les flocons délicats et incolores qui se trouvent au fond d'un matras datant de 8 mois, et qu'on les observe dans une goutte du liquide de Loeffler dilué, après les avoir désagrégés avec des aiguilles minces, on constate à un fort grossissement des faits que l'on n'observe pas sans cela. Les filaments analogues aux filaments aériens de la gélose sont nettement cloisonnés; ils se ramifient de la façon la plus variée et forment des chaînes de spores ovales ou rondes; ces chaînes sont à leur tour ramifiées (*fig.* 5, pl. VII).

La figure 6 de la planche VII me dispense d'une des-

cription plus ample. Je dirai seulement que j'ai pu constater les détails indiqués par suite de la clarté des parois cellulaires. Ils font d'ailleurs partie du cycle évolutif anormal de l'espèce et ont une grande importance au point de vue phylogénétique.

Caractères physiologiques

I. — Aérobiose

L'influence de l'oxygène libre sur le développement du Streptothrix peut être mise en évidence par une expérience fort simple. Si, après avoir pratiqué des ensemencements avec le même matériel de culture dans des tubes de gélose de contenu égal en quantité et en qualité, on en ferme une partie à la lampe et que l'on protège à peine les autres contre une infection par un léger tampon de ouate stérilisée, on constate déjà après 3 jours à 37° des différences dans le développement. Dans ces derniers il se produit successivement une vigoureuse pellicule superficielle plissée qui donne bientôt des spores ; dans ceux qui ont été fermés hermétiquement les colonies s'arrêtent dans leur croissance après avoir à peine atteint un diamètre de quelques millimètres, et ne donnent point de spores. Laisse-t-on, même après 6 mois, libre accès à l'oxygène, la superficie luisante devient alors opaque et très blanche.

Une autre preuve, qui fournit aussi des faits de quelque valeur, est donnée par les cultures dans des tubes de gélatine recouverte d'une couche variable d'huile très pure et stérilisée. J'ai préparé de ces cultures le 20 mars de l'année dernière en versant sur la surface de la gélatine une couche d'huile de 5 millimètres d'épaisseur dans le premier tube, de 6 millimètres dans le second et ainsi de suite jusqu'à 5 centimètres. En même temps je fis des cultures identiques, en partie avec des spores d'hyphomycètes vulgaires, en partie avec des schizomycètes. Dans les tubes ensemencés avec le Streptothrix, je ne constatai, durant le

premier mois, de développement de colonies que le long de la piqûre. Dans la suite, il se forma à la surface en contact avec l'huile une mince pellicule, qui, vers le 4e mois, avait atteint les parois de chaque tube. Cette pellicule finement plissée était sillonnée de plis en sens radiaire et plus marqués au centre. Elle constituait une sorte de diaphragme dont la périphérie adhérait au verre en remontant plus ou moins visiblement le long de celui-ci. Vers le centre elle présentait une dépression en forme d'entonnoir indiquant le point où la piqûre avait été faite. Au dessous, la gélatine était, soit partiellement, soit entièrement liquéfiée. Dans quelques tubes que je conserve encore, la gélatine n'est liquéfiée qu'au tiers ; dans d'autres la liquéfaction totale est survenue après 10 mois. On remarque, ce qui est assez singulier, que quand la pellicule a rejoint les parois internes du tube, quelques-uns des filaments qui la constituent, grimpent le long de la paroi en y adhérant. Ils peuvent arriver jusqu'à une hauteur de 11 millimètres et apparaissent comme une série de stries horizontales, opalines, très délicates et légèrement ondulées. Leur croissance s'arrête, en général, avant d'avoir atteint la surface de l'huile qui reste toujours limpide. Le mycélium du *Penicillium glaucum*, au contraire, arrive jusqu'à la surface de l'huile après plusieurs mois seulement ; il produit, il est vrai, un diaphragme pareil à celui du Streptothrix, mais l'huile entière est envahie par une myriade de filaments qui vont former des spores à la surface.

Si l'on compare ces différentes cultures maintenues dans des conditions identiques, on verra que le type présenté par le Streptothrix est analogue à celui des hyphomycètes plutôt qu'à celui des schizomycètes.

En vue d'expérimenter avec des *substrata* entièrement privés d'oxygène libre, j'ai finalement employé des tubes de gélatine, tenus au bain-marie à 25-30°, à travers lesquels je faisais barboter après les avoir inoculés, tantôt de l'acide carbonique, tantôt de l'hydrogène. Ils étaient pourvus d'un bouchon à fermeture hermétique et restaient en communication avec l'appareil à gaz au moyen d'un petit tube de verre plongeant jusqu'au fond de la gélatine. Un autre petit tube qui traversait le bouchon du côté opposé

servait à la sortie du gaz qui avait traversé la gélatine. Au bout de 20-25 minutes le tube de sortie était fermé à la lampe, et de suite après celui d'entrée, de sorte que les tubes de cultures contenaient un gaz absolument privé de communication avec l'extérieur. Après 3 mois, le développement était assez avancé dans les tubes de contrôle, de la même capacité, fermés de la même manière et dont la gélatine avait aussi été coulée sur les parois à la manière d'Esmarch ou solidifiée sur un plan incliné, tandis que dans tous les autres, excepté dans 2 sur 6 qui avaient été remplis d'acide carbonique, on n'apercevait pas la plus petite trace de végétation. Dans les deux tubes mentionnés (acide carbonique) il s'était développé, outre le Streptothrix, des colonies de *Penicillium* malgré les précautions prises pour empêcher une infection de la gélatine par le gaz. On constata d'ailleurs dans ces tubes la présence d'oxygène, peut-être parce que la fermature était imparfaite. Dans les tubes remplis d'hydrogène il n'y avait également aucun développement.

Bien donc que le Streptothrix puisse produire des filaments sans être au contact de l'air, ceux-ci ont besoin d'oxygène libre pour former des spores. Il est clair naturellement que les conditions qui favorisent la sporulation ne dépendent pas seulement de l'oxygène ; si toutefois ce dernier fait défaut, toutes les autres circonstances favorables ne sont plus utiles, par suite du manque d'énergie de ce microorganisme aérobie.

II. — Action de la chaleur

A 6°-8°, le développement est insignifiant. La végétation devient assez belle entre 18°-20°. L'optimum est entre 30° et 37°. Il existe entre le mycélium et les spores qui ont atteint leur développement complet depuis plus d'un mois, une différence remarquable en ce qui concerne la résistance à la chaleur. Le mycélium jeune dans un milieu très dense est tué en 10 minutes à 60°. Dans le bouillon de viande dilué avec de l'eau distillée stérilisée au triple de son

volume, il faut 10 minutes à 65° ; 5 minutes passées à cette même température retardent notablement sa croissance ultérieure. Les spores sont tuées quand on les expose pendant 15 minutes à 100° dans un milieu saturé de vapeur d'eau. Elles résistent sensiblement plus longtemps à la chaleur sèche. J'ai expérimenté avec des fils de soie infestés de spores que j'exposais dans une petite étuve sèche pendant 5 et 10 minutes à des températures supérieures à 100° en augmentant de 5° dans chaque expérience. Les fils étaient ensuite ensemencés avec toutes les précautions nécessaires pour éviter une infection dans des tubes de culture contenant du sérum de sang coagulé. Dans ceux-ci on a pu constater après 5 à 6 mois, un développement circonscrit à l'entour des fils qui avaient été exposés pendant 10 minutes à 120°. Ceux qui avaient été exposés à des températures supérieures sont restés stériles, sauf un qui a donné un résultat positif après avoir supporté 130° pendant 5 minutes. A 150° j'ai constamment obtenu une stérilisations complète.

III. — Influence de la lumière

Tandis que la lumière diffuse n'exerce aucune action sensible sur la germination des spores et sur les cultures en général, on ne peut en dire autant de la lumière directe du soleil.

Le 12 juillet, j'ai laissé jour et nuit dans un endroit exposé au midi des tubes de gélose dans une situation leur permettant de recevoir directement pendant plusieurs heures la lumière blanche du soleil ; je n'avais toutefois pas isolé les rayons lumineux des rayons thermiques. Dans quelques tubes l'ensemencement des spores avait été pratiqué quelques minutes auparavant ; d'autres contenaient des colonies qui s'étaient développées pendant 3 jours à 37° ; d'autres encore des colonies de 6 jours. Dans les premiers examinés après une insolation de 15 jours les spores n'avaient pas germé ; dans les autres, les colonies furent complètement arrêtées dans leur développement. Les cul-

tures avec spores également exposées au soleil pendant 10 jours, et transplantées ensuite dans des conditions favorables, crurent d'une façon anormale. D'autres restées au soleil pendant 35 jours restèrent stériles. La vitalité des filaments qui ont germé sur gélose dans l'obscurité depuis peu d'heures est détruite par une insolation de 4 jours. Dans ce genre de recherches j'ai toujours empêché un dessèchement rapide de la gélose au moyen de capuchons de caoutchouc, pour peu que l'espèce opposât à la dessication une résistance considérable.

IV. — Fonctions zymotiques. — Saprophytisme. — Parasitisme

J'ai déjà parlé de la variabilité que l'on rencontre dans la faculté du Streptothrix de peptoniser la gélatine de Koch, le sérum de sang solidifié, etc., mais on sait déjà combien il faut se méfier des observations peu prolongées, ou dans lesquelles on ne tient pas compte des propriétés du *substratum* ainsi que des circonstances susceptibles de faire naître des différences dans l'énergie végétative du microorganisme.

La réaction du milieu la plus favorable au développement de l'espèce est l'alcalinité ou la neutralisation, ainsi que le montre la comparaison du développement obtenu dans des tubes chargés de gélatine à réaction variée, dont on augmente l'acidité par des quantités légèrement croissantes d'acide lactique ou tartrique. Pour voir si ce microorganisme possède la propriété de modifier la réaction du milieu dans lequel il vit, j'ai fait des cultures dans de la gélatine à peine alcaline et à peine acide. Comme indicateur je me suis servi du tournesol d'après la méthode de Weisser (*Zeitschrift fur Hygiene*, I, fasc. 2). Quelques gouttes de cette solution ajoutées à des tubes contenant de la gélatine alcaline liquéfiée lui donnaient une coloration bleue qui ne changeait pas ; dans les tubes de gélatine acide on obtenait au contraire une couleur rose. Je stérilisais bien la gélatine, je la laissais se solidifier et je pratiquais les

ensemencements. Après que les cultures se furent bien développées, je pus vérifier que la coloration rose avait passé au bleu ; cette teinte bleue ne se modifia plus dans la suite. Une autre propriété que le Streptothrix possède aussi à un faible degré est la production de l'invertine dans des solutions à peine alcalines chargées de saccharose, 6-7 p. 100.

Le Streptothrix n'est toutefois pas capable de produire une fermentation alcoolique.

Il résulte clairement des expériences faites sur la végétation du Streptothrix avec des substances de composition chimique assez diverse, que les matières protéiques plus facilement assimilables contribuent le plus à son développement. Cependant le Streptothrix peut aussi prospérer là où prédominent les corps ternaires. Il se développe d'habitude spontanément à la surface des bactériacées et des hyphomycètes, sur lesquels il vit, jusqu'à un faible degré, en parasite, grâce à la faculté que possèdent ses filaments de digérer la membrane ou paroi de ces champignons inférieurs, assez riche en azote. Dans de semblables cas, l'action parasitaire exercée sur les bactéries pathogènes ou non et aussi sur les hyphomycètes se rapproche beaucoup du saprophytisme étant donné que la surface de ces microorganismes n'est pas envahie par le développement du Streptothrix, sauf dans le cas où après avoir terminé la période de leur plus grande activité ils se trouvent pour ainsi dire dans un stade de vie latente. Si l'on change les conditions favorables à son développement, le Streptothrix peut, à son tour, devenir l'hôte de quelques-unes des espèces aux dépens desquelles il avait crû.

Expériences sur les animaux. — J'ai inoculé des émulsions, faites avec de l'eau distillée stérilisée, et très riches en spores provenant de différents *substrata*, à des cobayes et à des lapins, sous la peau, par la voie veineuse, intrapéritonéale et par la voie intrapulmonaire. Ces dernières injections étaient pratiquées soit à travers les parois costales, soit après trachéotomie sans lésion du parenchyme pulmonaire. Quelques lapins ingérèrent aussi une assez grande quantité de Streptothrix mélangée à leurs aliments ; d'autres reçurent des injections de sérum liquéfié par ce même microorganisme dans la veine jugulaire. Nonobstant, je

n'ai pu constater chez les animaux mis en expérience aucune lésion permanente de quelque importance, attendu que les spores, entourées par les leucocytes étaient non seulement arrêtées dans leur développement, mais encore détruites. Lorsqu'on injecte par exemple sous la peau une quantité considérable de spores, on trouve 48 heures après une telle accumulation de leucocytes à l'endroit de l'injection, que l'on pourrait croire à la production d'un abcès par des Staphylocoques pyogènes. Après peu de jours, toutefois on ne constate plus qu'un petit nodule de tissu cicatriciel. La même chose se produit dans les organes où les spores sont parvenues par voie de circulation. Le canal digestif ne présente aucun désordre.

Ces résultats ne sont pas en désaccord avec les observations du Streptothrix rencontré pour la première fois dans le canal lacrymal de l'homme, accompagné d'inflammation des tissus limitrophes, attendu que dans ce cas les conditions sont trop différentes de celles auxquelles on soumet ce microorganisme dans les expériences relatées plus haut. Du reste, il n'y a rien d'étrange à ce que des spores flottant dans l'air aient pénétré dans ces canaux lacrymaux et qu'elles aient trouvé là des conditions favorables à leur développement. Ce fait a d'ailleurs une grande analogie avec ce qui se constate dans d'autres cavités naturelles de notre organisme plus spécialement exposées au contact de l'air : telles que par exemple, la cavité nasale, le méat auditif où peuvent occasionnellement se développer des microphytes d'une organisation assez élevée comme les *Aspergillus,* le *Botrytis Carsiana*. Quant à la phlogose attribuée au Streptothrix elle doit être mise sur le compte d'un stimulus très circonscrit et surtout mécanique, car nous ignorons encore quels microorganismes ont pu dans chaque cas spécial intervenir pour compliquer et étendre le processus inflammatoire.

Du genre Streptothrix et de sa classification

L'éminent botaniste de Breslau, après avoir relevé les particularités qui l'avaient avec raison le plus frappé, a placé ce genre parmi les *Schizophytes* de suite après les *Cladothrix* (1). Comme il avait toutefois observé que les filaments portaient de vraies ramifications bien qu'en petit nombre, qui rappelaient le mycélium des champignons, il ne dissimula pas l'incertitude que comportait cette classification. Après Cohn, ce genre a été rangé parmi les microorganismes pléomorphes, mais toujours dans l'ordre des *Schizomycétacées* Naeg., dans lequel il figure aussi dans le *Sylloge fungorum*, vol. VIII, dirigé par le célèbre mycologue P.-A. Saccardo. Dans cet ouvrage, les auteurs, M. le Dr I.-B. de Toni et M. V. Trevisan, abandonnant le genre fondé par Cohn, l'ont attribué au nouveau genre *Nocardia*, dans lequel ils décrivent la *Nocardia Foersteri* et l'*Actinomyces* en même temps que de véritables schizophytes !

Le même professeur Saccardo, auquel j'ai envoyé, il y a plus d'un an, une culture pure du Streptothrix, fut d'avis de le considérer comme un Schizomycète, ce que fait aussi actuellement le Dr Ernst Almquist, de Göteborg (2), dont les recherches confirment toujours plus l'importance que mérite l'étude des questions soulevées au début du présent mémoire. M. Almquist, qui m'a précédé dans la description du cycle évolutif de ce genre si singulier, énumère trois espèces de Streptothrix qu'il considère comme distinctes, mais qui doivent, au contraire, être probablement rapportées à l'espèce unique qui a servi à une époque antérieure de point de départ aux présentes recherches, dont le résultat est d'en rendre la connaissance plus complète et plus exacte. Cependant, malgré l'accord de tant d'opinions compétentes au sujet de la place à assigner au Strep-

(1) *Cohn, Beiträge*, I. 3, p. 204.

(2) *Zeitschrift für Hygiène*, VIII, p 189. Recherches sur quelques espèces bactériennes produisant un mycélium.

tothrix dans la classification des micromycètes, les faits que j'ai observés mènent à une conclusion toute différente que je dois toutefois faire précéder de quelques considérations générales brèves et schématiques, pour que l'on puisse mieux en juger.

Sans entrer ici dans la question de savoir si les espèces agames ont précédé les espèces dénuées de sexualité, ce qui est contesté par plusieurs, ainsi par Cohn, de Bary, Winter et Gaebel, examinons de quelle façon on peut s'élever des bactériacées aux espèces qui possèdent une structure graduellement plus parfaite, afin de voir s'il est vraiment plus difficile de donner des limites conventionnelles à l'ordre des schizomycètes qu'aux ordres plus élevés.

Pour parler des schizophytes, chez lesquels la fonction végétative et reproductrice est remplie par un élément cellulaire unique, le micrococcus, nous voyons que chez ce dernier la scission s'opère dans des modalités plus ou moins frappantes, jusqu'à fournir des caractères pour une différenciation générique. Passons sans énumérer les affinités des micrococcacées avec d'autres microorganismes, comme par exemple les ferments, et considérons seulement cette modalité de la scission par laquelle les micrococcus se confondent par degrés avec les espèces plus simples de la famille des bactériacées. Dans cette famille également, en ne faisant mention que de la série des êtres exclusivement mycologiques, nous voyons que quelques bacilles conservent le même mode de scission que les micrococcus, ce qui fait qu'il n'y a pas lieu de s'étonner si quelques espèces très importantes pour la pathologie et l'hygiène se scindent sans former aucuns nouveaux produits endogènes constituant des spores, dont la fonction est alors remplie par les éléments cellulaires formés par la division de la cellule originaire qui s'est plus ou moins allongée. En pareil cas, chaque cellule qui n'est plus capable de fournir une scission ultérieure peut donc être considérée, au même moment, comme spore et comme élément végétatif, ayant souvent acquis un degré tellement élevé de résistance à l'égard des agents extérieurs, qu'il ne permet plus de distinction nette avec les vraies spores. J'entends par là les cas dans lesquels la masse

entière du protoplasme n'est pas utilisée pour la formation de l'élément reproducteur, qui dérive de la scission d'un bacille en parties circonscrites. Dans les espèces plus élevées, chaque élément cellulaire pourvoit à sa multiplication et à sa perpétuation au moyen d'une nouvelle cellule ou spore, qui fait son apparition pour la première fois quand un bacille a besoin de meilleurs moyens de défense, et qui, plus tard, la formation des spores devenant plus habituelle, arrive à faire partie du cycle évolutif normal d'un grand nombre d'espèces. Ainsi donc, la spore qui se différencie du protoplasme des différents articles, produits de la scission d'une espèce bacillaire et qui ne contribuent que partiellement à la constituer, est aussi la résultante de toute leur énergie et se trouve par conséquent munie du pouvoir de résistance qu'exige sa fonction. Examinant enfin dans leurs grands traits la série des bacilles sporigènes, nous devons admettre que le degré d'organisation plus élevée, qu'il possèdent, abstraction faite de leurs dimensions dont la valeur ne saurait toujours être prise en considération, est représenté par cet ensemble de particularités morphologiques qui se rapprochent davantage de celles propres aux champignons filamenteux.

Le siège de la formation des spores aura donc de l'importance (bacilles arthrospores de de Bary) ainsi que la série des formes fournies par leur cycle évolutif. Parmi les bactériacées supérieures que l'on range actuellement au nombre des schizomycètes, sans vouloir parler ici de celles qui trouveraient peut-être une meilleure place parmi les algues, nous retrouvons des espèces dont les spores donnent en germant des filaments très longs simulant un véritable mycélium. Dans celles-ci, la partie végétative prend un grand développement avant que l'espèce pourvoie à sa multiplication ; et l'on voit participer à cette dernière tous les articles provenant de la scission des filaments unicellulaires, soit en formant des spores à leurs extrémités, soit en en produisant de typiquement endogènes. En se reportant toutefois aux caractères distinctifs essentiels des schizomycètes, on ne peut naturellement faire figurer parmi ces caractères que d'une manière relative leur extrême petitesse, leur forme et leur mode de multiplication vu

que chez les champignons inférieurs certains processus de multiplication sont beaucoup moins fondamentalement différents qu'il ne pourrait paraître à première vue. Ce qui, au contraire, a plus de valeur, sans négliger pour cela les autres faits morphologiques et biologiques, est le fait constant que les schizomycètes sont typiquement unicellulaires. Ils manquent de filaments exclusivement destinés à la production des spores ; ils manquent aussi d'un véritable mycélium. On peut rencontrer chez eux une structure mycéliforme et de fausses ramifications, mais jamais, au moins à l'état normal, on ne voit de vrais rameaux ou une condensation véritable du protoplasme en un seul groupe de filaments terminaux sporigènes, soit que chez eux les spores se forment d'une manière analogue à la scission, soit qu'elles se rapprochent de la germination.

Les microorganismes même très ténus qui, comme le Streptothrix, présentent un mycélium distinct des hyphes fertiles et un ensemble de particularités biologiques en harmonie parfaite avec celles des hyphomycètes, doivent être attribués à cet ordre. Évidemment, si l'on respecte du moins les caractères essentiels des groupes plus élevés, on pourra circonscrire les erreurs aux seules différenciations génériques et spécifiques, en évitant, comme dans notre cas et dans beaucoup de cas semblables, de décrire comme des bacilles filamenteux de véritables hyphomycètes.

Avec ces dernières, le Streptothrix a en commun, en dehors de ce que nous savons déjà et qu'il serait trop long de résumer ici, une persistance du pouvoir germinatif de ses spores dont je ne puis encore préciser les limites, mais qui dépasse certainement une durée de deux années. La durée d'incubation de ces mêmes spores atteint, dans des conditions déterminées, un maximum oscillant entre 34 et 35 jours. Les cultures exhalent en général une forte odeur de moisi, quand, toutefois, elles sont luxuriantes et qu'elles ont achevé complètement leur sporulation.

Pise, le 27 mai 1890.

EXPLICATION DES FIGURES

PLANCHE V

Phot. 1. — Culture de 15 jours sur gélatine exposée à 20°.

— 2. — Culture sur gélatine d'un mois dont la surface sporigène est régulièrement convexe et étendue.

Phot. 3. — Culture sur gélose glycérinée de 3 1/2 mois, sans spores.

Phot. 4. — Culture sur gélose sans glycérine de 10 mois, qui déjà peu de jours après l'inoculation se présentait à peu près sous l'aspect représenté.

Phot. 5. — Culture sur gélose glycérinée photographiée le 15 avril (inoculation pratiquée le 12 novembre 1889). Surface sporigène seulement dans le tiers supérieur.

Phot. 6. — Culture d'âge égal à la précédente, complètement sporifiée déjà après un mois. Les points noirs indiquent les gouttelettes de couleur ambrée foncée.

PLANCHE VI

Fig. 1 *a*. — Forme des colonies sur gélose après 2-11 mois, avec surface en complète voie de sporulation. Grandeur naturelle.

Fig. 2 *a*. — Autres colonies sur gélose glycérinée, ayant donné des spores après plus d'un an et la température ambiante. Culture dans un ballon d'Erlenmeyer. Grandeur naturelle.

Fig. 3 *a*. — Culture sur pain noir d'environ 3 1/2 mois. Le *substratum* en se desséchant, s'est retiré des parois. La colonie continue à s'étendre à la périphérie, mais très lentement.

Fig. 4 *a*. — Coupes horizontales d'une culture qui s'est développée pendant 15 jours le long d'une piqûre dans un tube de gélatine. Grandeur naturelle.

Fig. 5 *a*. — Colonie dans l'intérieur d'une plaque de gélatine de 7 jours (15°-18°). Grossissement : 75 diamètres.

Fig. 6 *a*. — Portion périphérique d'une colonie superficielle sur gélatine colorée au bleu de méthyle. Grossissement : 150 diamètres

Fig. 7 *a*. — Entrelacement et ramification de filaments observés vers la périphérie de la coupe de la figure 4 *a*. Grossissement : 450 diamètres.

PLANCHE VII

Fig. 1 *a*. — Filaments du mycélium et leur mode de ramification, avec divers filaments dans lequel on voit apparaître la condensation du protoplasme qui précède la scission et la mise en liberté, à leur extrémité, des vraies spores ou conidies. Grossissement : de 1,450 diamètres.

Fig. 2 *a*. — Fragments de filaments sporigènes avec les particularités inhérentes à leur structure ténue. Cultures dans le bouillon et sur gélatine. Grossissement : 1,450 diamètres.

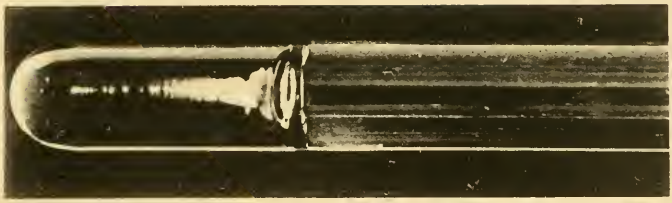
Fig. 3. — Préparation faite avec la superficie en voie de sporulation d'une vieille culture sur gélose. Grossissement : 1,410 diamètres.

Fig. 4. — Spores de la superficie d'une colonie ayant crû spontanément pendant près d'un an sur un liquide sucré fermenté. Grossissement : 1,500 diamètres.

Fig. 5. — Différents modes de ramification des filaments sporifères portés de la gélose dans l'eau de source, et restés dans cette dernière pendant 8 mois. Grossissement : 1,500 diamètres.

Fig. 6. — Les mêmes filaments donnant naissance à une seule chaînette de spores, précédées ou non de cloisonnement. Mycélium avec parois très distinctes qui, dans quelques endroits se rétrécissent ou présentent des cloisons très rapprochées et disposées de façon à rappeler ce qui s'observe chez les fongus d'une organisation plus élevée.

1



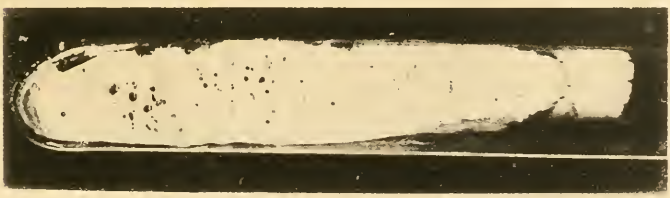
2

3

4

5

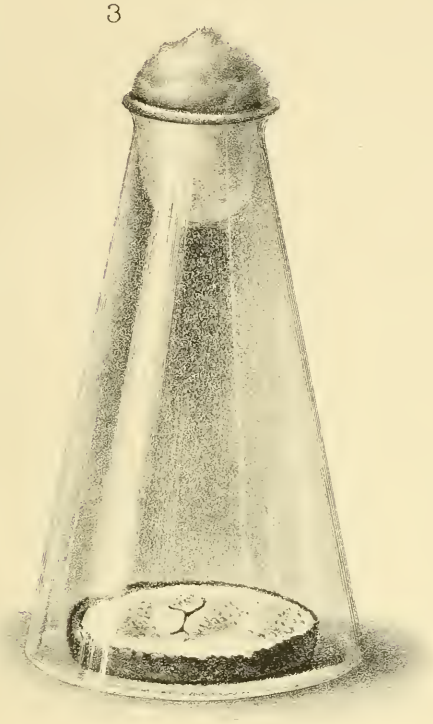
6



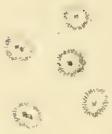
1

2

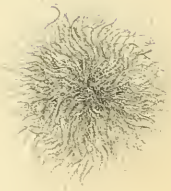
3



4

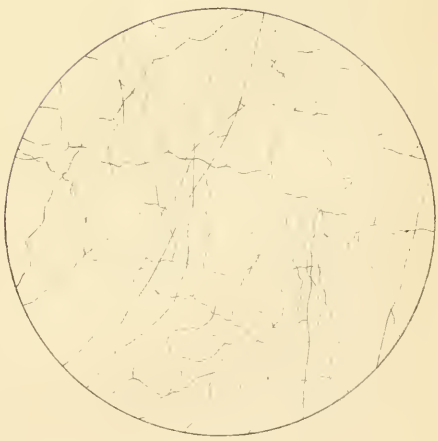


5



6

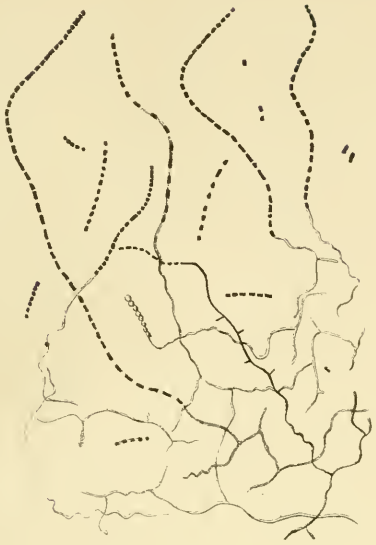
7



Gasperini ad. nat del. E. Oberlin

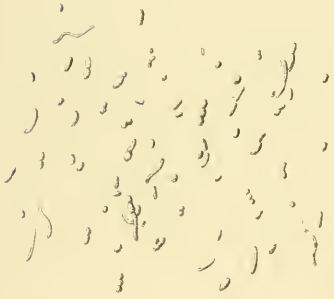
Imp. A Lafontaine & fils 150, Bd du Montparnasse

1



2

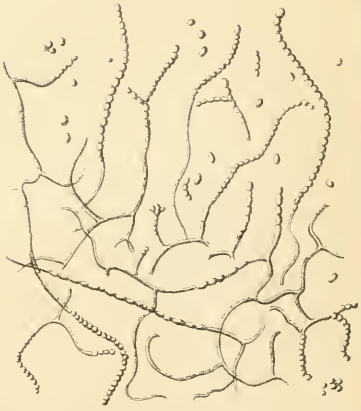
3



4

5

6



Gasperini ad. nat. del.

E. Oberlin

Imp. A. Lafontaine & fils 150, Bd du Montparnasse.

SUR DEUX COCCIDIES NOUVELLES PARASITES DE L'ÉPINOCHE ET DE LA SARDINE

PAR

P. THÉLOHAN (1)

On a signalé depuis longtemps la présence de Coccidies dans les Poissons (2); mais ces parasites n'ont encore fait l'objet d'aucune description; les auteurs qui les ont observés se sont bornés à signaler leur existence sans donner aucun détail sur leur évolution ou leurs caractères extérieurs (3).

J'ai déjà signalé (4) deux espèces, que j'ai rencontrées, l'une dans le testicule de la Sardine, l'autre dans le foie de l'Épinoche. Le présent travail a pour but de compléter, autant que mes observations me le permettent, l'histoire de ces parasites, qui, tous deux, rentrent dans le genre *Coccidium* et pour lesquels j'ai proposé les noms de *C. gasterostei* et de *C. sardinæ*.

On sait que le genre *Coccidium* a été créé en 1879 par R. Leuckart (5) pour la Coccidie du lapin. Aimé Schneider (6), en 1881, dans sa classification des coccidies, le rangea dans la tribu des *Oligosporées*.

Mais ces deux auteurs s'étaient mépris sur la véritable

(1) Travail du laboratoire d'Embryogénie comparée du Collège de France.

(2) Eimer. *Ueber die ei-oder kugelförmigen sogen. Psorosp. der Wirbelthiere*, 1870.

(3) Butschli, *Bronn's Thier-Reich's Klass. und Ord.* — Bd. I, Protozoa, p. 684.

(4) Thélohan, *Sur deux Coccidies nouvelles*. Comptes rendus de l'Académie des Sciences, séance du 9 juin 1890.

(5) Leuckart, *Parasiten des Menschen*, 2e Ausg., 1879.

(6) Schneider, *Coccidies nouvelles ou peu connues*. Arch. de Zoolog. expér. t. IX, 1881.

structure des spores, qu'ils considéraient avec Stieda (1) comme ne renfermant chacune qu'un corpuscule falciforme.

En effet les recherches de M. Balbiani (2) nous ont appris que la spore renferme en réalité deux corpuscules falciformes, présentant chacun un noyau et le genre *Coccidium* se trouve caractérisé par la présence constante dans le kyste de quatre spores à deux corpuscules.

Le nombre des espèces décrites jusqu'ici se réduit à quatre :

1° *Coccidium oviforme* Leuk. du foie du lapin ;

2° *C. perforans*, nom donné par Leuckart à une Coccidie qui vit dans l'épithélium intestinal de plusieurs animaux ; pour M. Balbiani (3) cette espèce ne serait pas distincte de la précédente ;

3° *C. sphericum ;*

4° *C. proprium.*

Ces deux espèces signalées par Schneider qui les décrivit d'abord sous le nom d'*Orthospora propria* sont parasites du *Triton cristatus* (4).

Je ne comprends pas dans cette énumération l'organisme rencontré par Grassi chez le chat et décrit et figuré par lui sous le nom de *Coccidium Rivoltæ* (5). En effet ce parasite, d'après les caractères mêmes donnés par l'auteur (deux spores renfermant chacune quatre corps falciformes), ne rentre pas dans le genre *Coccidium* tel que nous l'avons défini, et paraîtrait plutôt devoir être rangé dans le genre *Cyclospora* de Schneider.

Dans les différentes espèces, les spores ne semblent pas se former de la même façon. Dans le *C. oviforme*, la masse plasmique toute entière se divise en quatre sporoblastes dont chacun va former une spore. Dans le *C. proprium et sphericum* les sporoblastes ne résultent pas de la division

---

(1) Stieda, *Ueber die Psorosp. der Kaninchenleber und ihre Entwicklung.* Virchow's Archiv., Bd. XXXII, 1865.

(2) Balbiani, *Leçons sur les Sporozoaires*, 1884.

(3) Balbiani, *loc. cit.*, p. 93.

(4) Schneider, *Coccidies nouvelles ou peu connues.* Tablettes zoologiques, t. II, 1887.

(5) Grassi, *Sur quelques protistes endo-parasites.* Arch. ital. de Biologie, 1882 p. 438.

de la masse plasmique, mais sont produits par bourgeonnement et il reste une partie du plasma non employée sous la forme dite de noyau de reliquat.

On verra plus loin que des deux espèces que je vais étudier, l'une, celle de la Sardine, présente ce dernier mode de sporulation, tandis que l'autre se rapproche de la Coccidie du Lapin par la manière dont se forment ses spores.

Enfin les *Coccidium* décrits jusqu'ici présentent un développement en deux temps que M. Balbiani a comparé à celui des œufs de beaucoup de Nématodes. Comme dans l'évolution de ceux-ci, on observe, en effet, une première période qui se passe dans l'hôte, et une seconde où le parasite achève de se développer dans le milieu extérieur.

Au contraire, les deux espèces dont il s'agit ici accomplissent leur évolution tout entière dans l'organe qu'elles ont envahis et nous verrons que le *C. gasterostei* arrive fréquemment à l'état de maturité complète dans la cellule même où il s'est développé.

I. — **Coccidie de l'Épinoche**

Coccidium gasterostei (*nov. sp.*)

J'ai rencontré cette espèce au mois d'avril de cette année dans les épinoches (*Gasterosteus aculeatus*) des marais de la Vilaine dans le Morbihan. Elle semble assez répandue, au moins dans cette région, car je l'ai observée chez un dixième des Epinoches que j'ai examinées.

Comme je l'ai dit plus haut, elle vit dans le foie et chez tous les individus où je l'ai rencontrée, le grand nombre des kystes donnait à cet organe un aspect particulier qui permettait de reconnaître à l'œil nu la présence du parasite. Si on dilacère avec les aiguilles un fragment de foie malade, on constate que notre *Coccidium* vit à l'intérieur même des cellules hépatiques (*fig.* 1, 2, 14) où on le rencontre à tous les états de développement. J'ai observé plusieurs fois des cellules renfermant deux et même trois Coccidies.

La dissociation m'a seule permis de me rendre exactement compte des rapports du parasite avec la cellule hépatique : mais en pratiquant des coupes du foie infesté après fixation, durcissement et inclusion dans la paraffine, j'ai pu retrouver les diverses phases du développement et les étudier beaucoup plus facilement. La fixation des coupes au porte-objet par l'albumine de Mayer rend en effet l'emploi des réactifs colorants infiniment plus commode et leur action plus précise.

Comme fixateur, j'ai employé le liquide de Perenyi et le liquide chromo-acéto-osmique de Flemming. Les colorants qui m'ont donné les meilleurs résultats sont le picrocarmin et le carmin boraté alcoolique combinés avec le violet de gentiane ; l'hématoxyline m'a également donné de bonnes préparations. Enfin l'éosine et le rouge congo, comme colorants de fond m'ont été très utiles pour l'étude de la masse plasmique et des sporoblastes.

Je n'ai pas observé de phases très jeunes. Arrivé à sa taille définitive, le *Coccidium gasterostei* se présente sous forme d'une petite sphère de protoplasma, ne mesurant pas plus de 16 à 18 μ de diamètre et renfermant de grosses granulations assez réfringentes mais sans action sur la lumière polarisée (*fig.* 1 et 2). Ces granulations constituent souvent un obstacle très gênant pour l'observation du noyau qui se trouve au centre de la masse et qu'elles masquent parfois complètement.

A ce moment a lieu l'enkystement, c'est-à-dire que la petite sphère plasmique s'entoure d'une membrane mince et transparente exactement appliquée sur sa périphérie.

Bientôt elle se rétracte et laisse un vide entre elle et la membrane (*fig.* 3).

Le noyau que nous avons vu au centre du plasma, ne tarde pas à émigrer vers la surface (*fig.* 4).

Arrivé là, il se divise. La petite taille du noyau rend l'observation de ce phénomène très délicate, aussi n'ai-je pu en suivre toutes les phases. Cependant, en observant un grand nombre de coupes, j'ai pu trouver des figures d'une netteté suffisante pour me permettre de reconnaître la nature karyokinétique de cette division (*fig.* 5, 6).

Les deux noyaux ainsi formés s'éloignent l'un de l'autre et se divisent à leur tour, de sorte que l'on a finalement une sphère de protoplasma avec quatre noyaux qui se disposent régulièrement aux extrémités de deux diamètres perpendiculaires (*fig.* 8, 9).

M. Henneguy (1) a déjà signalé la division indirecte du noyau dans les Grégarines en voie de sporulation ; mais pareille observation n'avait pas encore, que je sache, été faite chez les Coccidies.

La segmentation de la sphère plasmique en quatre parties suit de près la formation des quatre noyaux. Elle semble se faire très rapidement et même d'un seul coup. Cependant, on trouve quelquefois un stade II, comme dans la figure 10, où la moitié *b* est déjà en train de se diviser ; dans la figure 11, on voit le stade suivant; mais la rareté de ces aspects dans les dissociations et dans les coupes me porte à croire que ce stade II est extrêmement court, si tant est qu'il soit constant et que la fragmentation d'un seul coup en quatre de la Coccidie ne soit pas le fait normal, comme je suis fort tenté de l'admettre.

Quoiqu'il en soit, le kyste renferme à ce moment quatre petites sphères qui vont donner naissance aux spores : ce sont donc des sporoblastes; elles renferment chacune un noyau (*fig.* 12). Celui-ci est ordinairement situé à la périphérie et ne tarde pas à se diviser. Ici encore j'ai observé des figures qu'il me semble impossible de concilier avec l'existence d'une division directe et que je crois pouvoir rapporter à la karyokinèse.

Quand les sporoblastes ont acquis deux noyaux, ils s'allongent, deviennent ovalaires ou elliptiques, les deux noyaux se trouvant toujours vers les extrémités du grand axe. Leur protoplasma présente de grosses granulations comme dans la jeune coccidie (*fig.* 16 et 17). Bientôt le sporoblaste s'entoure d'une mince enveloppe, et, à partir de ce moment, on peut le considérer comme une spore.

Dans celle-ci, on voit se dessiner autour des noyaux une zone à granulations plus fines : cette zone augmente

(1) Henneguy, *Formation des spores de la Grégarine du Lombric.* Annales de micrographie, t. I, 1888.

peu à peu et chaque noyau est entouré d'une petite masse piriforme de protoplasma granuleux : c'est le commencement de la formation des corps falciformes (*fig.* 17, 18). Le reste de la cavité de l'enveloppe est occupé par une masse irrégulière à gros granules (*noyau de reliquat* de Schneider), qui n'est autre chose que la partie du sporoblaste qui n'a pas encore été employée à la formation des sporozoïtes : à mesure que ceux-ci s'accroissent, on voit diminuer cette masse résiduelle (*fig.* 19-21). Dans la spore mûre, on n'en observe plus trace et les corps falciformes occupent à eux seuls la cavité de l'enveloppe. Ces spores sont fusiformes : elles mesurent 10 μ de longueur sur 4 à 6 μ de large.

Les corps falciformes sont renflés à une extrémité, effilés à l'autre : chacun occupe à peu près toute la longueur de la spore, mais ils sont entre-croisés de telle sorte que la grosse extrémité de l'un corresponde à l'extrémité effilée de l'autre (*fig.* 21). A l'état frais et sans l'action d'aucun réactif, il est souvent facile de distinguer l'interstice qui les sépare et qui forme une ligne oblique par rapport au grand axe de la spore. Les corps falciformes sont, comme je l'ai dit, formés d'un protoplasma très finement granuleux. Leur noyau se trouve vers la partie moyenne (*fig.* 21, 22, 23, 25, 26, *n*) ; quelquefois il est voisin de la grosse extrémité du corpuscule (*fig.* 24).

Dans les préparations traitées par le carmin ou le violet de gentiane, on trouve souvent dans le sporozoïte un ou deux globules colorés (*fig.* 21, 22, 23, *v*), situés à une ou aux deux extrémités du corpuscule ; ils sont de forme assez régulière, se colorent facilement par ces réactifs, et pourraient, au premier abord, en imposer pour des noyaux. Toutefois, avec un peu d'attention, on arrive vite à constater que leur affinité pour les colorants, est bien plus faible que celle du véritable noyau et qu'en enlevant avec précaution l'excès de matière colorante, il est facile d'obtenir des spores où les noyaux seuls sont colorés (*fig.* 24 et 25). De plus l'hématoxyline qui colore facilement et nettement ces derniers est absolument sans action sur les globules dont nous parlons.

Quelle est la nature de ces globules? Il faut, je crois,

les rapprocher des productions analogues, colorables par le carmin, signalées par A. Schneider dans l'*Eimeria Nepœ* et que cet auteur compare aux globules albuminoïdes des œufs de *Phalangium* (1).

Le savant professeur de la Faculté de Poitiers a également décrit dans les sporozoïtes des *Coccidium sphericum* et *proprium* des éléments tout à fait comparables comme situation à ces globules du *C. gasterostei;* mais tandis que nous venons de voir ces derniers se colorer facilement, ceux des *Coccidium* du Triton sont caractérisés par leur résistance à l'action des réactifs colorants. Faut-il conclure de ce fait à une différence essentielle entre ces parties des sporozoïtes? Ce serait, je crois, bien hasardeux : la situation et l'aspect de ces éléments dans les deux cas établissent entre eux une telle ressemblance que je ne serais nullement étonné que la manière opposée dont ils se comportent vis-à vis des réactifs fût non pas l'indice d'une constitution particulière mais le simple résultat de l'emploi d'une technique différente.

Ces globules se forment à un moment assez variable de l'évolution de la spore. Ils apparaissent quelquefois au moment où le sporoblaste commence à s'allonger et avant toute différentiation des corpuscules falciformes; mais dans la grande majorité des cas je ne les ai rencontrés que bien plus tard, quand ces derniers ont déjà acquis presque complètement leurs dimensions définitives.

Telle est la constitution des spores mûres du *C. gasterostei;* dans un même kyste, toutes les spores n'arrivent pas toujours en même temps à l'état de maturité et il est fréquent de rencontrer côte à côte des spores complètement développées et des sporoblastes encore dépourvus d'enveloppe et à un stade bien moins avancé. (*fig.* 17).

Je n'ai pu suivre plus loin l'histoire de ce parasite et j'ignore comment il pénètre dans son hôte de même que le sort du kyste après la maturité des spores. Il est probable que celles-ci arrivent dans l'intestin par les voies biliaires et gagnent avec les fèces le milieu extérieur; mais si plau-

(1) A. Schneider, *Coccidies nouvelles ou peu connues.* Tablettes zoologiques, t. II, 1887, p. 2.

sible que soit cette hypothèse, je ne la donne qu'avec la plus extrême réserve car je n'ai observé aucun fait à l'appui et je n'ai pu rencontrer de spores libres ni dans les canaux biliaires ni dans le tube digestif.

II. — Coccidie de la Sardine

Coccidium Sardinæ (*nov. sp.*)

Je n'ai pu observer cette seconde espèce qu'à l'état de maturité : je le regrette d'autant plus que ses dimensions relativement considérables doivent rendre plus facile l'étude des phénomènes qu'elle présente pendant son développement.

Elle habite, comme je l'ai dit, le testicule de la Sardine. Je l'ai rencontrée dans des exemplaires envoyés de Concarneau à M. Henneguy et dont il avait bien voulu me permettre d'examiner les organes au point de vue parasitaire.

Je n'ai jamais pu même par dissociation, constater l'habitat intra-cellulaire de cette Coccidie. Cela tient probablement à ce fait que je n'ai observé que des formes mûres dont la taille relativement considérable doit amener de bonne heure la rupture de la cellule nourricière. Sur des coupes j'ai trouvé les kystes dans la lumière des canaux séminifères. Ils mesurent 50 μ de diamètre ; ils sont parfois ovoïdes mais le plus souvent régulièrement sphériques.

A l'intérieur, on observe un petit amas granuleux appliqué contre la membrane (*fig.* 28, *r*) : c'est un noyau de reliquat, dont j'ai déjà signalé l'analogie avec celui des *C. proprium* et *sphericum* et dont l'existence rend infiniment probable, sinon absolument certaine la formation des sporoblastes par bourgeonnement comme dans ces deux espèces.

Sur cette masse sont implantées quatre spores fusiformes, renfermant chacune deux sporozoïtes.

Rapprochées par leur extrémité fixe, ces spores divergent par leur bout libre et affectent une disposition rayonnée plus ou moins régulière. Un caractère remarquable de ce

Coccidium, c'est le peu d'espace qu'occupent dans la cavité du kyste les spores et le noyau de reliquat ; il en résulte un vide qui donne au kyste de cette espèce un aspect tout particulier et caractéristique.

Dans chaque spore, on trouve deux sporozoïtes (*fig.* 28, 29, *f*). Leur agencement est un peu différent de ce que nous avons observé dans le *C. gasterostei*. En effet, ici chacun d'eux n'occupe pas toute la longueur de la spore et leur entrecroisement est beaucoup moins considérable (*fig.* 29, 30, *f*, *f'*).

Chaque sporozoïte renferme un noyau (*fig.* 29, *n*) : je n'ai rien observé qui rappelle les globules dont j'ai parlé plus haut à propos du *Coccidium* de l'Épinoche.

A cela se bornent malheureusement les données que j'ai pu recueillir relativement à ce nouveau parasite de la Sardine. Ce qui m'a porté à publier ces observations incomplètes, c'est l'intérêt que me semblait présenter le rapprochement des deux espèces que je viens de décrire, se rapportant chacune à un type particulier du même genre : j'en ai dit assez plus haut sur ce sujet pour n'avoir pas à y revenir ici.

EXPLICATION DE LA PLANCHE VIII

Fig. 1-27 *Coccidium gasterostei.* — Fig. 28-30 *C. sardinæ*

Fig. 1. — Cellule hépatique renfermant une Coccidie; dilacération après action de l'alcool; N, noyau de la cellule hépatique; C, Coccidie.

Fig. 2. — Id. Coloration par le picro-carmin; N, noyau de la cellule hépatique; *n'*, noyau de la Coccidie.

Fig. 3. — Coccidie venant de s'enkyster : noyau central. Carmin boraté, violet de gentiane; *k*, membrane du kyste; *p*, protoplasma renfermant de gros granules; *n*, noyau.

Fig 4. — Le noyau a émigré à la périphérie; color. id., mêmes lettres.

Fig. 5, 6. — Phases de la division du noyau : color. id., mêmes lettres.

Fig. 7. — Stade à 2 noyaux : *n*, *n'*.

Fig. 8. — Les 2 noyaux s'écartent l'un de l'autre.

Fig. 9. — Stade à 4 noyaux.

Fig. 10 — La masse plasmique s'est divisée en deux parties (*a* et *b*); *b* présente un étranglement et est sur le point de se diviser.

Fig. 11. — Stade suivant.

Fig. 12. — Division de la masse plasmique en 4 sporoblastes, *sp*, nucléés

Fig. 13. — Sporoblastes à 2 noyaux.

Fig. 14. — Cellule hépatique renfermant une coccidie (*c*), à l'état de maturité, présentant 4 spores (*sp*), vues par un des pôles.

Fig. 15. — Coccidie à l'état de maturité avec 4 spores.

Fig. 16 et 17. — Sporoblastes (*sp*) à 2 noyaux commençant à s'allonger.

Fig. 18 à 21. — Jeunes spores : sporozoïtes en voie de développement (*f*, *f'*); diminution graduelle du noyau de reliquat (*r*); *n*, noyau des sporozoïtes.

V, globules des sporozoïtes; *e*, enveloppe des spores.

Fig. 22 et 23. — Spores mûres : plus de noyau de reliquat; 2 corpuscules disposés tête-bêche, *n*, *n* leurs noyaux. V. globules.

Fig 22. — spore color. par le carmin et le violet de gentiane.

Fig. 23. — spore color. au carmin seul.

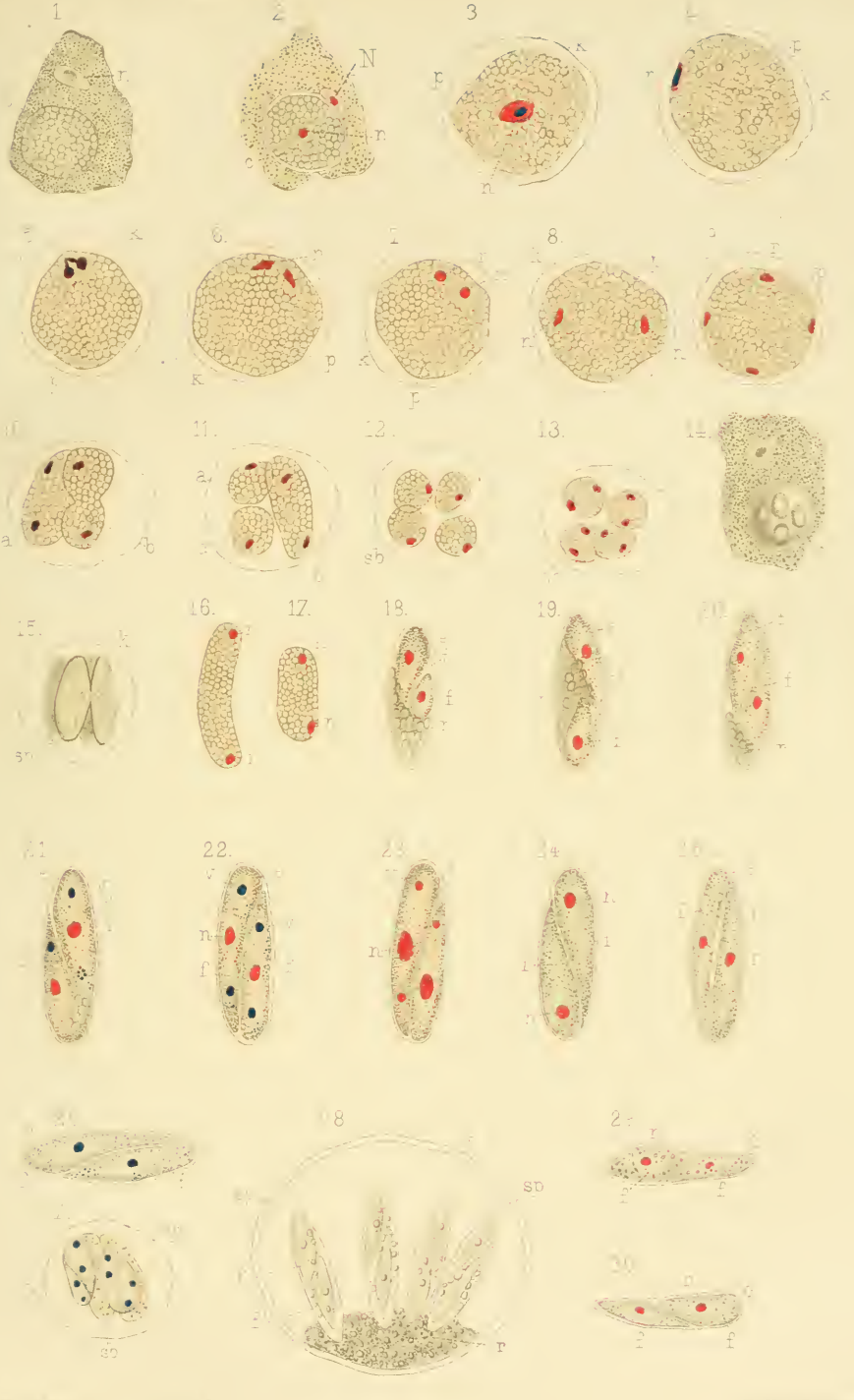
Fig. 24 et 25. — Spores traitées par le carmin boraté; les noyaux seuls sont colorés.

Fig. 26. — Spore traitée par l'hématoxyline; *n*, *n'*, noyaux.

Fig. 27. — Kyste renfermant 2 spores mûres (*sp*), et 2 sporoblastes (*a*, *b*). Eosine, violet de gentiane.

Fig. 28. — *Coccidium sardinæ*: Kyste mûr; *k*, enveloppe; *r*, noyau de reliquat; *sp*, spores; *f*, corpuscules falciformes.

Fig. 29, 30. — Spores : *f*, corps falciforme; *n*, *n'*, noyaux; *e*, enveloppe des spores.



COCCIDIUM GASTEROSTEI (1-27)
COCCIDIUM SARDINÆ (28-30)

SUR LA PRÉSENCE D'ÉLÉMENTS SEMBLABLES AUX PSOROSPERMIES DANS L'*ÉPITHÉLIOMA PAVIMENTEUX* (1)

PAR M. H. VINCENT

AIDE-MAJOR ATTACHÉ AU LABORATOIRE DE BACTÉRIOLOGIE DU VAL-DE-GRACE

Dans le courant de l'année dernière, M. Darier a démontré que l'acné cornée hypertrophiante et la maladie de Paget sont déterminées par l'évolution de parasites particuliers, les coccidies; ce fait a été confirmé récemment par Wickham. MM. Malassez et Albarran ont également signalé la présence de nombreuses coccidies dans certains épithéliomas, en émettant l'hypothèse que beaucoup de tumeurs épithéliales pouvaient être sous la dépendance de parasites analogues.

Les faits suivants semblent venir à l'appui de cette opinion. De nombreux examens histologiques d'épithéliomes pavimenteux venus de diverses origines nous ont permis de constater au milieu des lobules épithéliaux ou dans leur voisinage des corps spéciaux très analogues aux psorospermies de Malassez et de Darier. Ces corps, dont les dimensions se rapprochent de celles des cellules du corps muqueux, sont entourés d'une membrane réfringente tantôt mince, tantôt très épaisse, selon l'âge du parasite. Le protoplasma de ces corps est parfois amorphe, plus souvent granuleux et peut présenter de gros grains de pigment. Au centre de la cellule existe un amas nucléaire arrondi, triangulaire ou vaguement polygonal, formé quelquefois aussi d'une agglomération de granulations rondes et assez

(1) *Extrait des comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, séance du 1er mars 1890.

volumineuses. Dans une de nos préparations, colorée à l'aide du procédé indiqué plus loin, on peut voir deux noyaux, l'un arrondi, l'autre allongé et courbé en croissant. Parfois il n'existe aucun noyau.

Lorsqu'elle est seule, la psorospermie a une forme générale arrondie ; cette forme est modifiée par la compression réciproque lorsque ces corps sont conglomérés.

Il existe quelquefois plusieurs psorospermies dans une membrane commune.

Ces corps sont enkystés eux-mêmes dans une cellule dont ils refoulent le noyau propre à leur périphérie. Dans l'épithélioma pavimenteux lobulé, le centre du lobule est formé d'une agglomération de psorospermies très serrées et ce tassement, joint aux difficultés de la coloration, ne permet pas d'en voir toujours nettement les contours. Mais l'examen fait avec l'objectif à immersion, soit dans le globe épithélial, soit à son pourtour, soit enfin dans les boyaux de l'épithélioma pavimenteux tubulé, montre un très grand nombre de ces éléments disséminés ou non, chacun étant enkysté dans une cellule. Les dessins que nous avons obtenus figurent quelques-uns de leurs aspects.

Les essais de coloration réussissent mal, précisément à cause de leur siège intra-cellulaire et aussi de la membrane propre qui les entoure. Le procédé suivant donne cependant de bonnes préparations.

Traiter rapidement les coupes, *très minces*, par l'ammoniaque marquant 15°, 9 Baumé. Laver à l'eau, colorer ensuite pendant cinq minutes avec une solution alcoolique concentrée de safranine. Décolorer partiellement par l'acide acétique au centième, laver à l'eau et achever la décoloration avec l'alcool jusqu'à ce que les coupes aient pris une teinte rose. Essence de girofle, xylol et baume.

On peut faire la double coloration avec la fluorescéine ou avec l'hématoxyline très étendue.

Ainsi traitées, les coupes présentent, sur un fond pâle, des amas lobulaires fortement colorés en rouge et dont on distingue les éléments avec leurs noyaux plus foncés. En certains points, les psorospermies colorées en rose vif se détachent sur le fond jaune ou violet de la cellule. Entre la psorospermie et le protoplasma de la cellule dans laquelle

le corps est inclus, il existe souvent un vide dû à la rétraction du parasite par les réactifs. Plusieurs psorospermies, d'ailleurs bien reconnaissables, ne sont pas colorées, probablement à cause de l'épaisseur de leur coque.

La membrane hyaline parfois épaisse qui entoure ces corps, leur enkystement intra-cellulaire, leur mode de coloration particulier par la safranine, enfin les faits déjà acquis à la science sur la nature du parasite de la psorospermose folliculaire, de la maladie de Paget et de certains épithéliomas, permettent peut-être de rattacher les éléments que nous venons de signaler dans l'épithélioma pavimenteux au même groupe de parasites.

Quelques essais de culture de ces psorospermies trouvées dans l'épithélioma pavimenteux ne nous ont pas jusqu'ici réussi.

Les préparations que nous avons eu l'honneur de présenter à la Société de Biologie viennent à l'appui des faits que nous avons avancés.

ÉTUDE SUR LA FERMENTATION AMMONIACALE

ET SUR LES FERMENTS DE L'URÉE (*suite*)

Par le Dr P. MIQUEL

---

§ III. — Description des espèces

Urobacillus Freudenreichii *sive* Bacillus ureæ γ

Morphologie de l'Urobacillus Freudenreichii. — Avec les moyens d'investigation que nous possédons actuellement, la forme des bactéries, telle qu'on peut la saisir avec nos meilleurs objectifs, surtout quand il s'agit d'espèces atteignant à peine 1 μ de largeur, ne saurait constituer un caractère distinctif sur lequel on doive longtemps insister.

L'*Urobacillus Freudenreichii* est un bacille mobile à extrémités arrondies de 1 μ à 1, 3 μ d'épaisseur et d'une longueur indéterminée, qui cependant au début de la fermentation est voisine de 5 à 6 μ, mais qui peut atteindre dans les cultures sur la gélatine et en général sur les milieux solides plusieurs millimètres de longueur.

Cette espèce, d'abord très mobile, quand on la cultive dans les liquides chargés d'urée perd, comme la plupart des bacilles urophages, son mouvement quand le carbonate d'ammoniaque s'accroît considérablement dans les liquides soumis à son action. Alors, je le répète, l'organisme se précipite au sein des dépôts où il continue à végéter et à sécréter une quantité d'urase qui entre en solution dans les liqueurs, gagne les couches supérieures des urines et est utilisée pour la conversion de l'urée dissoute.

Dans de bonnes conditions de température, c'est-à-dire vers 30°, la mobilité de cette espèce est vraiment remarquable : les filaments les plus longs formés d'articles accolés au nombre de 4 à 10, tourbillonnent dans le liquide

modérément alcalin avec une agilité surprenante, on assiste à un véritable entre-choquement d'articles en chapelets comme lancés dans plusieurs directions ; il est à noter que ces articles sont unis entre eux avec une certaine rigidité, qu'ils n'ondulent pas à la manière d'une chaîne flexible, mais comme si tous les chaînons étaient soudés entre eux sous des angles divers. Le mouvement qui paraît dominer est celui de la rotation spiroïdale. Cependant, si ce ferment ammoniacal est mobile dans les milieux liquides, il est en revanche de la plus parfaite immobilité sur la gélose, le lichen, la gélatine où il n'adopte plus la forme d'articles courts mais se montre formé de longs filaments enchevêtrés. Les *Urobacillus Pasteurii* et *Duclauxii* dans de semblables conditions sont toujours au contraire en bâtonnets très courts. Avec le temps, les longs filaments de l'espèce que nous étudions se scissiparisent, se résolvent partiellement en granulations et en belles spores brillantes presques circulaires douées d'une très forte résistance à la chaleur sèche et humide.

Ces germes de 1 μ de diamètre environ ne se produisent pas avec une égale abondance dans toutes les cultures. Les urines naturelles ou artificielles fermentées n'en contiennent que fort peu et souvent on ne peut parvenir à en apercevoir un seul. C'est pour ce motif, qu'il arrive fréquemment qu'on se trouve dans l'impossibilité de provoquer de nouvelles fermentations avec des urines fermentées abandonnées quelque temps à elles-mêmes. Ce sont le bouillon peptonisé exposé à 25° et la gélatine maintenue à 20° qui constituent les milieux les plus favorables à une abondante sporulation ; le liquide visqueux prélevé de la gélatine liquéfiée est surtout éminemment fécond, on le trouve toujours abondamment peuplé de spores.

Au bout de trois ans, ces germes n'ont pas sensiblement vieillis, ils peuvent déterminer une fermentation tout aussi promptement qu'une collectivité d'organismes adultes nés de la veille, et j'insiste sur cette particularité, qu'après un long sommeil les endospores des bacilles urophages que j'ai pu étudier déterminent une hydratation plus rapide et de durée plus courte que les hydratations qu'on provoque en introduisant dans les urines fraîches quelques gouttes

d'un liquide même en voie de fermenter. Le bacille issu de la graine montre donc des fonctions physiologiques plus actives que le bacille engendré par scissiparisation ; ce fait, je le note soigneusement en me réservant d'en tirer ultérieurement les conclusions intéressantes qu'il comporte.

La germination des spores de l'*Urobacillus Freudenreichii* ne présente rien de particulier. Semées en grand nombre sur une goutte de gelée fluide de lichen alcalanisé maintenu en chambre humide, on peut suivre leur évolution au microscope. D'abord elles gonflent et perdent leur réfringence, ensuite elles donnent une cellule elliptique qui s'allonge dans un même sens en produisant un bâtonnet qui devient plus tard un long filament qui peut se segmenter en articles courts.

Les variations morphologiques que présente cette espèce sont surtout intéressantes à étudier au sein des dépôts produits dans les urines normales fermentées. Quelques jours après l'hydratation complète de l'urée de ces urines, on aperçoit, à côté des premières générations de bacilles précipités au fond du vase, de nouvelles générations pléomorphes de l'organisme primitif ; le plus souvent les bactéries aperçues possèdent la forme de gros microcoques ovales ou de courts bâtonnets épais, irréguliers, parfois coudés comme une potence sans trace visible d'articulation. Ces cellules irrégulières peuvent posséder des dimensions transversales plus que doubles de la largeur du bacille primitif ; quelques-unes d'entre elles semblent bourgeonner et montrent à un point de leur périphérie une cellule-fille, ovale, de dimensions très exiguës. Enfin, l'aspect de ces végétations s'écarte à tel point de la forme première du bacille que pendant longtemps j'ai cru avoir à faire à un micrococcus contaminant accidentellement l'*Urobacillus Freudenreichii*. L'on sait qu'en pareil cas je conseille depuis bon nombre d'années pour séparer les espèces bacillaires des microcoques, de chauffer au-delà de 60° pendant plusieurs heures une fraction de la culture présumée impure afin de détruire irrévocablement les coccus. Cette opération pratiquée avec les dépôts des urines fermentées par l'urobacille en question, de façon à

détruire tout organisme adulte et à ne conserver que la graine, me permit d'obtenir des bacilles qui plus tard subirent les mêmes transformations et se montrèrent sous les formes végétatives précédemment décrites.

S'il est très difficile et même souvent impossible de discerner au microscope dans les cultures liquides et dans les cultures solides les mélanges d'espèces, il est une pierre de touche qui fait reconnaître d'emblée si un ferment ammoniacal est à l'état de pureté ou mélangé à des microbes étrangers. L'épreuve consiste à ensemencer le ferment dont on connaît le pouvoir physiologique et chimique dans plusieurs vases d'urines artificielles et normales. S'il est pur, la fermentation s'effectue régulièrement dans les conditions déjà établies et connues, s'il est mélangé à des espèces saprophytes on observe d'ordinaire de grandes irrégularités dans le début de l'acte fermentaire; les urines, par exemple, seront le siège d'une altération profonde, de troubles divers, elles présenteront des dépôts bien avant que l'urée soit touchée. D'autres fois, la fermentation ne se poursuivra pas régulièrement jusqu'à complet épuisement de l'urée, on la verra rester en route ou traîner anormalement. Dans ces conditions on peut être certain qu'on se trouve en présence d'un mélange d'espèces et que les faits observés avec un ferment aux allures changeantes et irrégulières sont entachées de causes d'erreurs et d'illusions. Les formes involutives observées avec l'*Urobacillus Freudenreichii* dans les milieux fortement alcalins sont très réelles et paraissent dues à des conditions de cultures qui détruisent l'harmonie des formes primitives. L'urobacille précité continue effectivement à végéter pendant longtemps et à sécréter dans les milieux déjà très chargés de carbonate d'ammoniaque une quantité sensible d'urase; cette sécrétion est sans doute pénible, peu efficace, mais elle est dans tous les cas très appréciable, il ne saurait être alors surprenant que l'espèce d'abord bacillaire dans les milieux neutres ou peu alcalins ait été contrainte à adopter dans les milieux caustiques un mode de végétation spécial plus conforme à sa vie nouvelle.

Cultures liquides. — L'aspect des cultures de l'*Urobacillus Freudenreichii* dans les urines nous est connu et

pour ce motif, je juge inutile de rappeler que la limpidité absolue du liquide suit de près le trouble déterminé par la fermentation à son début, que les dépôts dans les urines normales sont pelliculaires, qu'ils sont au contraire muqueux et très légers dans les urines artificielles.

Semée dans le bouillon exactement neutralisé, c'est vers le 2e ou le 3e jour que la même espèce détermine un trouble léger qui disparaît en donnant lieu à un dépôt blanchâtre peu abondant. Parfois le trouble ne survient qu'après une période d'incubation de quatre à huit jours. Vingt-cinq fois sur cent l'ensemencement reste infécond alors que le développement du microbe est certain quand on prend le soin d'alcaliniser légèrement le bouillon de peptone. Ce milieu de culture ne s'altère jamais profondément; au bout de plusieurs mois comme de plusieurs années on constate que ce bouillon primitivement neutre possède une réaction fortement alcaline et une odeur rappelant la colle de peau. Ces bouillons âgés ne renferment jamais d'urase mais les germes qu'on y rencontre sont pleins de vie.

Les solutions uniquement chargées de substances cristallisées, liqueurs de Pasteur et de Cohn, ordinaires ou sucrées, ne conviennent pas pour cultiver l'*Urobacillus Freudenreichii,* mais il suffit d'y ajouter de faibles quantités de substances albuminoïdes pour qu'il y croisse et s'y multiplie aisément.

J'avais cru dans le principe que les matières albuminoïdes étaient très utiles et même indispensables à la production du ferment soluble de l'urée, il n'en est rien, car je cultive actuellement dans mon laboratoire plusieurs moisissures urophages auxquels je donne pour tout aliment du sucre, des sels ammoniacaux et des sels à bases alcalino-terreuses. Dans ces conditions ces champignons convertissent fort bien l'urée en carbonate d'ammoniaque et si pareil fait ne s'observe pas avec l'*Urobacillus Freudenreichii,* c'est vraisemblablement parce que cette espèce ne trouve pas dans les liqueurs minérales les principes nutritifs aptes à favoriser son éclosion et sa végétation.

Cultures sur substrata solides. — Comme avec le bouillon, les ensemencements de l'*Urobacillus Freudenreichii* dans la gélatine neutre et simplement peptonisée peuvent

donner lieu à quelques insuccès (25 à 30 p. 100). Je suis porté à attribuer ce fait à l'inexacte neutralité des milieux que je prépare. Je ne connais pas en microbiologie de difficulté plus grande que l'obtention d'un liquide ou d'une gélatine stérilisée absolument neutre. On a beau ne confier à personne ces opérations délicates, et se livrer soi-même avec tous les soins possibles à ces sortes de saturations par les procédés alcalimétriques les plus précis ; la neutralité, si elle est à peu près exacte à froid, n'existe plus quand le liquide a été porté à 110° pendant une 1/2 heure ou 1 heure pour le purger de germes. Il faut donc considérer comme à peu près impossible la préparation de milieux nutritifs rigoureusement neutralisés ; sans doute on doit à mon sens attacher peu d'importance à ces opérations minutieuses; cependant, dans le cas présent nous nous trouvons dans la nécessité d'expliquer la cause des résultats contradictoires qui viennent d'être signalés, et nous arrivons à ce fait: qu'en l'absence d'une alcalinité plus ou moins sensible plusieurs bacilles urophages sont dans l'impossibilité de croître et de prospérer, soit dans les bouillons, soit dans les gélatines ordinaires. Aussi, tel expérimentateur obtiendra-t-il des résultats négatifs, là où un autre en obtiendra de positifs, et tout cela dépendra d'une goutte de solution de soude caustique ajoutée en plus ou en moins au milieu nutritif au moment de sa préparation. Quand on considère que beaucoup de cas d'infécondité tiennent à des causes aussi minimes, on ne saurait trouver surprenantes les divergences qui s'élèvent parfois entre plusieurs auteurs ; l'on ne saurait donc mettre trop de prudence à contester des résultats qui tiennent souvent à une méthode de préparation qui fournit d'habitude des milieux légèrement alcalins au lieu d'en donner de neutres.

Mais, il est réellement beaucoup plus surprenant que le plus ou moins d'alcalinité des milieux favorise dans certains cas le développement d'une espèce et dans d'autres lui nuisent au contraire. Si l'on se donne, par exemple, la peine de faire parallèlement la statistique des bactéries contenues dans l'air et dans les eaux, avec une double série de vases contenant d'un côté des milieux de cultures à peu près neutres et d'un autre des milieux légèrement

alcalinisés, on constatera aisément que les milieux alcalins donnent dans l'analyse de l'air des statistiques plus élevées que celles que fournissent les milieux neutres ; et, qu'au contraire, les milieux alcalins gênent considérablement le rajeunissement des bactéries des eaux et expriment des chiffres de beaucoup inférieurs à ceux que donnent les milieux neutres. Que conclure de semblables faits, si ce n'est que pour les bactéries à l'état de germes desséchés, les milieux alcalins sont des terrains très fertiles, tandis qu'ils sont nuisibles à la vie poursuivie des cellules bactériennes adultes, se multipliant dans les eaux : je veux finalement en venir à ceci que les résultats inconstants obtenus par le même expérimentateur ou des expérimentateurs séparés ont souvent pour cause unique des faits du genre de ceux qui viennent d'être mentionnés.

L'*Urobacillus Freudenreichii* piqué dans une masse de gélatine ordinaire abandonnée à 20° y croît habituellement d'une façon appréciable dès le 2e jour. Le point imperceptible par où le fil de platine a pénétré dans la gélatine grossit et donne une tache microbienne blanc de lait, quelques jours plus tard cette tache s'est étalée en surface en cercle plus ou moins régulier atteignant 3 à 4 millimètres de diamètre, pendant que l'espèce acquiert un très faible développement dans la profondeur de la gélatine. Du 8e au 10e jour la tache qui était restée horizontale s'affaisse visiblement et au-dessous d'elle s'accumule en forme de cupule un liquide trouble et visqueux dont le volume augmente lentement. Au bout de 30 à 40 jours le *substratum* est complètement fluidifié et se transforme en un liquide filant de couleur plus foncée que la teinte jaune très claire de la gélatine peptonisée à 20 p. 1.000. En vieillissant encore, rien ne change dans cet aspect, le liquide devenu d'une parfaite limpidité montre un dépôt blanc volumineux muqueux qui exhale une très légère odeur de carbonate d'ammoniaque formé au détriment de la gélatine, et voilà même après une attente de plusieurs années les seules modifications que fait subir à ce milieu solide ce premier urobacille liquéfiant.

Si l'on sème 10 à 12 spores de ce microbe sur une plaque de gelée chargée d'urée contenue dans un vase conique

de 5 centimètres de diamètre, on voit apparaître au bout de 2 à 3 jours sur les points où le hasard a transporté les spores de petites colonies blanches parfaitement sphériques dont le volume paraît s'accroître pendant une semaine et autour desquelles se forme en même temps un atmosphère de cristaux très fins uniformément dégradés du centre à la périphérie. La colonie en occupe comme toujours exactement le milieu, mais tandis que les espèces puissamment urophages provoquent la production de ces cristaux dans des points très éloignés de la colonie, ici la tache dégradée occupe un espace relativement restreint qui ne mesure pas 10 à 12 millimètres de diamètre. Au premier coup d'œil ces taches présentent dans leur ensemble l'aspect des moisissures qui croissent dans la gélatine sans déterminer ce chatoiement que produisent les tubes mycéliens en s'irradiant en tout sens dans des milieux liquides et solides.

Pour des causes sur lesquelles j'ai déjà plusieurs fois insisté, la colonie de l'espèce urophage qui nous occupe s'arrête bientôt dans son accroissement; les bactéries qui la composent fortement touchées par le carbonate d'ammoniaque cessent de se multiplier à l'état de bâtonnets adultes et finissent même plus tard par être tuées par l'excès d'alcalinité dont ils sont la cause première.

L'ensemencement par piqûres de la gélatine nutritive chargée de 20 grammes d'urée par litre mérite moins d'attirer notre attention, l'urobacille y détermine une traînée blanche dès le lendemain ; les jours suivants apparaissent les cristaux révélateurs de la fonction physiologique du microbe; d'abord groupés au voisinage immédiat des piqûres, ils se répandent plus tard dans la masse entière en produisant un piqueté fin. Mais on n'observe ici aucune liquéfaction dans ces piqûres ; au bout de 4 à 6 mois la gélatine se liquéfie en bloc en passant par la période du ramollissement lent et progressif qui s'observe toujours quand on ensemence des microbes fortement urophages dans les gélatines chargées d'urée, qu'ils soient ou non liquéfacteurs de la gélatine ordinaire peptonisée. Les cristaux tenus en suspension se précipitent au fond du vase et le tout se transforme en une liqueur sirupeuse très claire qui ne fonce pas en couleur comme la gélatine ordinaire fluidifiée pendant la période d'accroissement de l'*Urobacillus Freudenreichii*.

Cette même espèce se développe très bien sur la gélose et le lichen additionnés ou non de carbamide.

En terminant l'énumération des caractères que présente l'*Urobacillus Freudenreichii* dans les divers milieux de cultures, nous ne croyons pas inutile de rappeler brièvement les différences qui le distingue à cet égard des deux urobacilles précédents.

1° Il se développe aisément dans les bouillons de peptone neutres usités en microbiologie;

2° Il croît également bien dans la gélatine ordinaire, où il acquiert un beau développement;

3° Il liquéfie complètement cette dernière au bout de 4 à 6 semaines de végétation à la température de 18 à 20°.

On sait au contraire que les *Urobacillus Pasteurii* et *Duclauxii* ne peuvent se multiplier dans le bouillon et dans la gélatine peptonisés ordinaire que quand par un artifice de laboratoire on alcalinise assez fortement ces milieux, même dans de semblables conditions, le développement de ces deux espèces reste toujours chétif. D'autre part, dans leurs cultures forcées la gélatine n'entre jamais en liquéfaction, contrairement à ce qui s'observe avec l'urobacille de Freudenreich.

Anaérobiose. — L'*Urobacillus Freudenreichii* n'est pas une espèce anaérobie. A l'abri absolu de l'oxygène de l'air, il ne détermine pas la plus faible fermentation. Parfois cependant, même en prenant de très grandes précautions, on constate dans les urines placées à l'abri de l'atmosphère la disparition de 2 à 3 grammes d'urée; mais il est toujours facile de s'assurer que ce début d'hydratation est causé par une petite quantité d'oxygène dont on n'a pas débarassé complètement les liquides mis en expérience.

Influence de la température sur la végétation de l'espèce. — Il était aisé de prévoir que cet urobacille se conduirait comme ses congénères sous l'action du chaud et du froid. A 0°, son développement est nul ; ce n'est que vers 8 à 10°, qu'il commence à manifester un accroissement sensible par l'action qu'il exerce sur l'urée dissoute, néanmoins à cette température la fermentation traîne et ne se complète pas. A 15°, il faut environ 15 à 20 jours pour obtenir la conversion totale de l'urée d'une urine normale. A 30 et à 35°, comme on l'a vu plus haut, l'hydratation est achevée

en 8 jours. Voici du reste un tableau dressé d'après une série de 4 essais effectués avec l'urine normale stérilisée.

Urine normale stérilisée à 110°

	Urée disparue par litre :			
	8°-10°	15°	30°	35°
Après 1 jour	»	»	2 gr 7	1 gr 6
» 2 jours	»	»	6 3	3 2
» 6 »	»	3 gr 6	14 4	10 9
» 8 »	»	6 4	15 6	15 7
» 12 »	»	13 6	»	»
» 28 »	3 gr 9	15 8	15 4	»
» 38 »	7 2	15 8	»	»

Quand on emploie dans ces expériences l'urine artificielle, en général beaucoup plus favorable à la multiplication des espèces urophages que l'urine normale de l'homme, on peut établir avec rigueur que la température comprise entre 33 et 35° est la plus favorable à la marche rapide de l'hydratation de l'urée par l'*Urobacillus Freudenreichii*.

A 40°, la fermentation ne se déclare jamais quelques abondants qu'aient été les ensemencements dans les urines; comme contre-expérience, et pour démontrer que la semence est bien vivante et seulement arrêtée dans sa germination par l'élévation de la température, il suffit d'abaisser cette dernière à 30° pour voir l'hydratation commencer, se poursuivre et s'achever.

A 37°,5, c'est-à-dire au degré de chaleur du corps humain, il est exceptionnel de voir une urine convenablement ensemencée, perdre plus de 2 à 3 grammes d'urée ; je présume que si un début de fermentation est encore possible à cette température limite, la végétation du microbe cesse bientôt sous les actions combinées de la chaleur et de l'alcalinité. En effet, à 37°,5, les urines restent limpides et présentent au microscope quelques rares individus appartenant vraisemblablement pour la plupart au levain ajouté en vue de déterminer la fermentation. Nous sommes donc ici en présence d'une espèce botanique qui pourrait exercer une action nuisible dans l'appareil urinaire si elle était capable de végéter dans les urines à la température de notre corps. On sait malheureusement qu'il n'en est pas

ainsi pour tous les ferments de l'urée, et que les *Urobacillus Pasteurii* et *Duclauxii* vivent très bien à 37°,5 et qu'ils sont même plus fortement alcaligènes à 40° qu'à 30°.

A considérer le fait que je signale, le bacille de Freudenreich n'est pas pathogène puisqu'il ne possède pas la faculté de dédoubler l'urée à 37°,5, à plus forte raison à la température des malades atteints de fièvre.

Résistance au temps. — A l'état de spore et dans les milieux dépourvus d'alcalinité, l'*Urobacillus Freudenreichii* doit posséder la faculté de traverser sans périr de nombreuses années. Je possède dans mon laboratoire des cultures de ce microorganisme dans le bouillon et sur la gélatine aujourd'hui vieilles de plus de 3 ans, et qui sont d'une fécondité comparables sur tous les rapports aux cultures récentes. Les choses ne se passent pas ainsi, on le devine aisément, si on laisse vieillir ces germes dans les urines ammoniacales complètement fermentées. Dans les urines chargées de 20 p. 1.000 d'urée on retrouve encore des spores vivantes après 8 à 10 mois, au contraire, si l'urine est chargée de toute la quantité de carbonate d'ammoniaque que l'espèce peut produire en détruisant 40 à 45 grammes d'urée, les tentatives de rajeunissement sont infructueuses après une trentaine de jours. L'*Urobacillus Pasteurii* résiste au contraire plus de 6 mois dans des milieux chargés d'une quantité de carbonate d'ammoniaque trois fois plus élevée.

Résistance des germes à la chaleur. — Pour calculer le degré de résistance d'une bactérie urophage aux diverses températures, il est, je le répète, indispensable d'emprunter l'espèce adulte ou la semence à une culture effectuée dans le bouillon ordinaire ou sur la gélatine peptonisée. Le temps d'action de la température me semble devoir être assez prolongé, c'est pour ce motif que j'ai adopté depuis mes premiers travaux de micrographie la durée de 2 heures. L'espèce délayée dans de l'eau distillée stérilisée est introduite dans des ampoules de 1 centimètre cube environ de capacité que l'on place au centre d'un bain-marie à niveau constant parfaitement réglé avec un régulateur Schlœsing, ou un régulateur Chancel. Ces bains d'une capacité d'une douzaine de litres marquent une température à peu

près invariable pendant la durée de l'expérience ; on ne saurait, il est vrai, réaliser des bains liquides accusant dans toute leur masse une température rigoureusement déterminée ; les thermomètres très sensibles qu'on y plonge oscillent dans des limites assez étroites (quelques dixièmes de degrés) au gré des courants du liquide suivant que ces derniers proviennent de la surface de chauffe, de la surface ou encore des parois latérales exposées au refroidissement. Cependant on diminue considérablement l'amplitude de ces oscillations en plaçant les ampoules de verre dans un second vase métallique suspendu au centre du bain.

J'avoue ne pas comprendre très bien le sens qu'attachent plusieurs auteurs aux expressions semblables à celles-ci : telle espèce ne résiste pas 1, 2, 3 ou 5 minutes à tel degré de chaleur ; les expérimentateurs qui les emploient ont-ils jamais eu la curiosité de déterminer le degré de chaleur précis que peut marquer en si peu de temps l'eau contenant les germes à essayer ? Dans un bain de volume relativement considérable l'ascension du liquide des ampoules à la température marquée par le bain peut excéder la durée d'une minute, temps dont, il me semble, on devrait tenir compte dans ces sortes de recherches. Je n'ai aucun désir d'imposer la limite de temps (120 minutes) que j'ai arbitrairement choisie, mais je veux faire remarquer que dans ma manière d'opérer, le temps de l'ascension de la température du germe dans sa culture à celle à laquelle on le soumet peut-être considéré comme négligeable.

Résistance des spores de l'Urobacillus Freudenreichii à la température humide

Température maintenue 2 heures	Nombre d'ampoules mises en expérience	Cas de fermentation dans l'urine artific.
58°	4	4
59	4	4
70	4	4
75	4	4
80	4	4
85	8	7
87°5	6	5
91	6	6
93°5	4	2
94	8	1
95	6	0
96	12	0

Ainsi, c'est bien entre 94 et 95° que les spores endogènes de l'*Urobacillus Freudenreichii* succombent après une chauffe de 2 heures. Si l'on examine maintenant la vitesse du rajeunissement de ces spores chauffées, on observe que l'hydratation de l'urée des urines artificielles s'effectue aussi rapidement avec les spores portées au-delà de 90° pendant 2 heures qu'avec celles qui n'ont pas été chauffées du tout. Il semble donc que l'action microbicide de la température se fait sentir brusquement et non graduellement ainsi que le démontre la rapidité du rajeunissement. Les spores soumises au contraire à l'action des agents chimiques passent véritablement par divers degrés d'affaiblissement avant d'être détruites, ce qu'elles manifestent par une durée d'incubation plus longue qu'à l'ordinaire, alors que l'agent physique qui nous occupe ou les tue, et jamais on le conçoit, rien n'apparaît dans les urines ensemencées, ou ne les tue pas et elles se comportent comme les spores fraîches n'ayant jamais été soumises à l'action de la chaleur.

Influence des antiseptiques. —L'action des antiseptiques sur l'*Urobacillus Freudenreichii* se rapproche assez de celle que nous avons déjà observée sur les *Urobacillus Pasteurii* et *Duclauxii;* cependant, cette première espèce oppose moins de résistance que ces dernières à l'action toxique des substances chimiques considérées.

En première ligne vient le sublimé corrosif qui entrave toute fermentation quand les urines artificielles en contiennent 1 : 25. 000.

Action du Sublimé corrosif sur l'Urobacillus Freudenreichii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de :			
		3 jours	6 jours	9 jours	un mois
0 gr 100	1 : 10.000	»	»	»	nulle
0 066	1 : 15.000	»	«	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 040	1 : 25.000	»	»	»	nulle
0 033	1 : 30.000	»	»	2 gr 1	»
0 033	1 : 30.000	»	»	»	16 gr 8
0 025	1 : 40.000	»	»	»	3 9

Action du Sublimé corrosif sur l'Urobacillus Freudenreichii (suite)

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de :			
		3 jours	6 jours	9 jours	un mois
0 025	1 : 40.000	»	11 gr 8	»	»
0 020	1 : 50.000	»	»	»	6 gr 10
0 016	1 : 60.000	»	4 gr 3	»	»

Puis suit le biiodure de mercure qui dans mes essais n'a pas arrêté une fois la fermentation à la dose de 1 : 25,000, habituellement son action est efficace à la dose de 0 gr. 050 par litre.

Action du Biiodure de Mercure sur l'Urobacillus Freudenrichii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de :			
		3 jours	6 jours	9 jours	un mois
0 gr 100	1 : 10.000	»	»	»	nulle
0 066	1 : 15.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20.500	»	»	»	nulle
0 040	1 : 25.000	»	»	»	16 gr 8
0 033	1 : 30.000	»	»	»	19 7
0 033	1 : 30.000	»	16 gr 1	»	»
0 025	1 : 40.000	»	»	18 gr 7	»
0 025	1 : 40.000	»	»	»	4 gr 6
0 020	1 : 50.000	»	»	»	15 3
0 016	1 : 60.000	»	5 gr 9	»	»

L'action du sulfate de cuivre sur l'*Urobacillus Freudenreichii* est très remarquable; cette substance qui à la dose de 1 : 2.000 ne s'oppose pas à la fermentation complète des urines par les urobacilles précédents, la suspend ou l'éternise dès que les urines en renferment 1 : 4.000. A 1 : 2.000 la fermentation ne débute jamais, à 1 : 3.000 et à 1 : 4.000 il est rare d'observer l'hydratation de plus du quart de l'urée dissoute dans le liquide; ce n'est qu'aux doses de 1 : 5.000 que la biogénèse de l'ammoniaque peut prendre une marche assez régulière et se poursuivre parfois jusqu'à épuisement de l'urée : il suffit d'ailleurs pour se convaincre des faits que j'avance, de jeter un coup d'œil sur

le tableau suivant:

Action du Sulfate de Cuivre sur l'Urobacillus Freudenreichii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de : 3 jours	6 jours	9 jours	un mois
1 gr 000	1 : 1.000	»	»	»	nulle
1 000	1 : 1.000	»	»	»	nulle
0 666	1 : 1.500	»	»	»	nulle
0 666	1 : 1.500	»	»	»	nulle
0 500	1 : 2.000	»	»	»	nulle
0 500	1 : 2.000	»	»	»	nulle
0 500	1 : 2.000	»	»	»	nulle
0 333	1 : 3.000	»	»	»	nulle
0 333	1 : 3.000	»	»	»	4 gr 3
0 333	1 : 3.000	»	»	»	nulle
0 250	1 : 4.000	»	»	»	5 gr 0
0 250	1 : 4.000	»	»	»	nulle
0 200	1 : 5.000	»	12 gr 5	»	»
0 200	1 : 5.000	»	»	»	7 gr 6
0 200	1 : 5.000	»	»	6 gr 1	»
0 166	1 : 6.000	»	»	16 gr 1	»
0 133	1 : 7.500	»	»	»	7 gr 8
0 133	1 : 7.500	»	5 gr 4	»	»
0 100	1 : 10.000	»	8 gr 4	»	»
0 050	1 : 20.000	10 gr 2	»	»	»

L'iode arrête la fermentation à 2 p. 1.000.

Action de l'Iode sur l'Urobacillus Freudenrichii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de : 3 jours	6 jours	9 jours	un mois
10 gr 000	1 : 100	»	»	»	nulle
5 000	1 : 200	»	»	»	nulle
3 333	1 : 300	»	»	»	nulle
2 500	1 : 400	»	»	»	nulle
3 500	1 : 400	»	»	»	nulle
2 000	1 : 500	»	»	»	nulle
2 000	1 : 500	»	»	»	nulle
1 666	1 : 600	»	»	»	12 gr 9
1 250	1 : 800	»	7 gr 9	»	»
1 000	1 : 1.000	5 gr 8	»	»	»
1 000	1 : 1.000	»	»	»	5 gr 6
0 500	1 : 1.200	»	17 gr 9	»	»
0 333	1 : 3.000	10 gr 7	»	»	»

L'acide borique commence à l'entraver à 1 : 300, et comme nous l'avons constaté plus haut, l'acide borique agit surtout en s'attaquant plutôt aux ferments solubles qu'aux ferments figurés.

Action de l'Acide Borique sur l'Urobacillus Freudenreichii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de :			
		3 jours	6 jours	9 jours	un mois
5gr000	1 : 200	»	»	»	nulle
4 000	1 : 250	»	»	»	nulle
3 333	1 : 300	»	»	»	4gr7
2 500	1 : 400	»	»	»	6 4
2 000	1 : 500	»	»	»	nulle
2 000	1 : 500	»	»	7gr1	»
1 666	1 : 600	»	5gr4	»	»
1 666	1 : 600	»	»	8gr9	»
1 333	1 : 750	»	»	6 1	»
1 111	1 : 900	3gr9	7gr1	»	»
1 000	1 : 1.000	5 4	»	»	»
1 000	1 : 1.000	8 4	»	»	»
0 666	1 : 1.500	4 6	»	»	»

Enfin l'acide phénique suspend la fermentation par l'*Urobacillus Freudenreichii* quand il se trouve dans les liquides sous le poids de 15 grammes par litre.

Action de l'Acide phénique sur l'Urobacillus Freudenreichii

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de :			
		3 jours	6 jours	9 jours	un mois
20gr000	1 : 50	»	»	»	nulle
10 000	1 : 100	»	»	»	4gr0
5 000	1 : 200	»	»	»	nulle
5 000	1 : 200	»	»	»	6gr1
3 333	1 : 300	»	»	»	6 7
3 333	1 : 300	»	»	»	3 9
2 500	1 : 400	5gr4	»	»	»
2 500	1 : 400	»	5gr3	»	»
2 500	1 : 400	»	17 8	»	»
2 000	1 : 500	10gr0	»	»	»
2 000	1 : 500	»	»	16gr8	»
1 666	1 : 600	10gr4	»	»	»

Le tableau récapitulatif suivant indique sommairement l'action des antiseptiques que j'ai essayés.

Doses minima de quelques antiseptiques capables de s'opposer efficacement à la fermentation d'un litre d'urine artificielle par l'Urobacillus Freudenreichii.

Substances	Poids	Titre des solutions
Sublimé corrosif.	0gr040	1 : 25.000
Biiodure de mercure.	0 050	1 : 20.000
Sulfate de cuivre.	0 500	1 ; 2.000
Iode.	2 000	1 : 500
Acide borique.	4 000	1 : 250
Acide phénique	20 000	1 : 50

Dans un chapitre spécial sur les propriétés générales des ferments ammoniacaux, je reviendrai un instant sur cette espèce intéressante; actuellement je vais poursuivre l'étude commencée des urobacilles par une espèce fort curieuse dont les propriétés physiologiques ont une grande parenté avec l'*Urobacillus Duclauxii*, et dont les propriétés morphologiques sauf l'aspect des cultures, tiennent de l'Urobacillus dont je termine ici la description.

J'ai donné à cette nouvelle espèce le nom de mon savant confrère et ami le Dr Maddox qui, comme on le sait, a été l'un des premiers à étudier systématiquement les poussières de l'atmosphère, à découvrir dans leur sein une innombrable variété d'espèces, et à qui, enfin, la photographie comme la microscopie doivent de si fructueuses découvertes.

(*A suivre.*)

REVUES ET ANALYSES[1]

ROUX et NOCARD. — **A quel moment le virus rabique apparaît-il dans la bave des animaux enragés ?** (*Annales de l'Institut Pasteur*, Mars 1890.)

Il existe dans le public une opinion fâcheuse, malheureusement trop répandue, c'est que la morsure d'un chien enragé n'est redoutable que pendant les accès de rage. Les expériences de MM. Roux et Nocard viennent nous démontrer le mal fondé de cette croyance populaire.

Ces savants expérimentateurs ont donné la rage aux chiens en leur injectant dans la chambre antérieure de l'œil un peu d'émulsion de bulbe d'animal enragé. Les chiens, ainsi inoculés, devaient mourir, d'après les données de la science, dans un délai maximum de 20 jours. Chaque animal était l'objet d'une surveillance incessante, pour noter l'apparition des premiers symptômes rabiques, qui s'annoncent par une élévation sensible de la température (39°,3 à 39°,8), alors que l'animal ne présente aucun changement dans ses allures, même pour un œil exercé. A ce moment, on recueille la bave et on l'injecte à des cobayes et des lapins qui en peu de temps meurent de la rage.

Dans trois expériences, faites dans ces conditions, il a été prouvé que 24 heures, 48 heures, 3 jours même avant l'apparition des premiers symptômes rabiques, la salive des chiens d'expérience était virulente.

Mais ces expériences sont des expériences de laboratoire, dira-t-on, et les choses ne se passent pas ainsi dans les cas de morsures produites par des chiens enragés. Pour répondre à cette objection et se rapprocher des conditions ordinaires d'inoculations accidentelles, MM. Roux et Nocard ont examiné la virulence de la bave après inoculation de la rage sous la peau de 3 chiens.

---

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

Trente heures avant l'apparition des premiers symptômes la salive était virulente.

De tout ce qui précède, les auteurs en concluent qu'un chien peut être dangereux 3 jours avant l'apparition de la rage et même avant. De là, la nécessité d'attacher une grande importance aux morsures du chien, car il peut présenter tous les signes extérieurs de la santé, alors qu'il porte dans sa gueule le virus rabique. Dans le cas de morsure, cautériser les plaies au fer rouge et faire mettre l'animal en observation, et au besoin inoculer la bave sur des animaux. Si des symptômes douteux apparaissent, ne pas hésiter à envoyer la personne mordue à l'Institut Pasteur.

L. M.

Dr J. Rosenthal. — **Recherches sur la présence de microorganismes dans les tumeurs et sur le bacille du carcinome de Scheurlen** (*Zeitschrift für Hygiene*, V, 1, p. 162).

Le bacille trouvé, au commencement de l'année 1888, par M. Scheurlen, dans un grand nombre de cas de carcinomes et considéré par cet auteur comme la cause de cette maladie, n'a jusqu'ici trouvé que de rares partisans. Dans le présent travail, M. Rosenthal lui porte, croyons-nous, le coup de grâce. Rappelons en deux mots en quoi consistait la découverte de M. Scheurlen. Ce savant, en inoculant directement dans des tubes remplis de sérosité pleurétique, stérilisée d'après la méthode du chauffage discontinu qu'emploie M. Robert Koch pour stériliser le sérum du sang, du suc recueilli avec les précautions antiseptiques usuelles dans l'intérieur de carcinomes et de ganglions cancéreux, avait vu la plupart de ses tubes se peupler, dès le troisième jour d'un bacille mobile particulier, long de 1,5 à 2,5 μ et large de 0,5 μ. Inoculé à des chiens, il avait produit une tumeur de consistance molle, mal limitée, atteignant environ le volume d'une noix et diminuant ensuite jusqu'à celui d'une noisette ou d'un haricot. L'examen microscopique montrait en même temps une abondante prolifération cellulaire. Bien des choses, dans le travail de M. Scheurlen, pouvaient prêter le flanc à la critique. On pouvait lui reprocher d'abord d'avoir négligé de faire des cultures sur plaques pour donner la preuve que son bacille était seul contenu dans les sucs cancéreux ; ensuite, le résultat de ses inoculations était bien vague et les caractères anatomiques des tumeurs qu'elles avaient produites ne présentaient rien de spécifique. En outre de ces objections de critique, M. Rosenthal fait encore valoir, avant de présenter le résultat de ses propres recherches, différentes considérations d'ordre général qui, selon lui, semblent s'opposer à l'hypothèse

d'une origine bactérienne du cancer. Ainsi, jusqu'ici, les bactéries n'ont jamais réussi qu'à détruire des tissus et non pas à en former de nouveaux ; puis l'idée de la nature infectieuse et parasitaire de ces tumeurs expliquerait difficilement la présence des tumeurs congénitales. Enfin, les cas dans lesquels une infection serait produite par contact sont fort rares, et l'on ne connaît pas non plus de cas dans lesquels un chirurgien aurait gagné un cancer en se blessant pendant une opération de ce genre.

Passant ensuite à ses propres expériences, exposées dans plusieurs tableaux, M. Rosenthal formule les conclusions suivantes :

On trouve des microorganismes même dans la glande mammaire saine.

Le bacille de Scheurlen ne se trouve pas seulement dans les tissus carcinomateux, on constate de même sa présence dans les néoplasmes les plus divers.

Ce même bacille n'a pas été trouvé dans tous les carcinomes.

Au moyen de culture sur plaques, on arrive à constater avec certitude que le tissu carcinomateux contient encore d'autres microbes en outre de ce bacille.

Un bacille paraissant, de tous points, absolument pareil à celui de Scheurlen, se trouve sur l'épiderme sain. Il a été décrit par M. Bordoni-Uffreduzzi sous le nom de *Leptothrix* ou *Bacillus epidermidis*. Le fait que l'on ne trouve le bacille de Scheurlen que dans les néoplasmes situés près de la peau, tandis qu'il manque dans les carcinomes des organes internes, parle en faveur de l'identité de ces deux organismes.

Si l'on ajoute à ceci que les inoculations de M. Scheurlen ont donné des résultats douteux, et que celles pratiquées par M. Senger dans ses expériences de contrôle sont restées négatives, il faut conclure, dit M. Rosenthal, que ce bacille n'est pas la cause du cancer et qu'il ne possède pas les qualités pathogènes que M. Scheurlen lui a attribuées.

E. F.

Dr S. Kitasato. — **Sur le bacille du tétanos** (*Zeitschrift für Hygiene*, VII, 2, p. 225).

Dans un précédent numéro de ces *Annales* nous avons rendu compte (v. tome I., p. 287) des travaux récents sur la nature microbienne du tétanos. En présence des insuccès constants auxquels s'étaient heurtés les expérimentateurs pour cultiver à l'état de pureté le microbe de cette redoutable affection, nous étions arrivés à la conclusion que ce dernier était encore à trouver. Depuis, M. Kitasato a eu plus de succès que ses prédécesseurs. Il a, en effet, ainsi qu'il résulte du présent mémoire, réussi à isoler et à

cultiver le microbe décrit par Nicolaier et à reproduire le tétanos chez les animaux d'expériences auxquels il inoculait des cultures pures de ce microbe.

La chose n'a pas été aisée toutefois. Le pus qui servit de point de départ à ces expériences et qui provenait de la blessure d'un soldat mort du tétanos à l'hôpital, contenait bien les bacilles à tête d'épingle de Nicolaier, mais inoculé sur du sérum il donna, comme l'avaient remarqué d'autres expérimentateurs, naissance à des cultures impures, quoique actives, desquelles M. Kitasato, tant qu'il se servit des moyens usuels de séparation, put isoler les micro-organismes les plus divers, 3 espèces anaérobies, 5 espèces facultativement anaérobies et 7 espèces aérobies, dont aucun cependant, inoculé à l'état de pureté, ne donna le tétanos. Ayant remarqué que les cultures les plus riches en bacilles à tête d'épingle étaient celles qui avaient été tenues 48 heures à 36-38°, M. Kitasato les soumit, au bain-marie, à la température de 80° pendant 3/4 d'heure à 1 heure. Ces cultures donnèrent encore le tétanos, ce qui prouve que les spores avaient résisté à cette température. Ensemencées dans de la gélatine dont il fit des plaques à l'abri de l'air et en présence de l'hydrogène, les cultures ainsi traitées donnèrent alors naissance au bout de 8 jours (à 18-20°) à des colonies composées uniquement de bacilles un peu plus petits que ceux de l'œdème malin, et qui semés sur de l'agar ou dans du bouillon tenu à l'abri de l'air, donnèrent des cultures sporifères avec des bacilles en tête d'épingle. Ces cultures pures inoculées aux animaux, leur donnèrent régulièrement le tétanos. Les autres bacilles anaérobies contenus dans le pus étudié par M. Kitasato forment aussi des spores, mais moins résistantes que celles du bacille tétanique, car le chauffage à 80° les détruit déjà au bout de 30 minutes. Dans tous les cas où M. Kitasato produisit, dans la suite, le tétanos expérimental par l'inoculation de terre de jardin, il lui fut possible d'isoler le bacille tétanique par cet artifice de culture. Il faut cependant se garder d'employer une température plus élevée, car à 100° les spores sont tuées en 5 minutes.

Les bacilles du tétanos sont absolument anaérobies et ne croissent qu'en l'absence d'oxygène. L'hydrogène leur convient, mais ils ne supportent pas l'acide carbonique. Ils croissent bien dans la gélose et dans la gélatine, surtout lorsqu'on ajoute 1.5 à 2 p. 100 de sucre, de même que dans le bouillon peptonisé. La gélatine est liquéfiée, avec formation de gaz. Les cultures dégagent une odeur caractéristique de brûlé. Des cultures successives n'affaiblissent pas la virulence du microbe. Les colonies dans la gélatine ressemblent un peu à celles du *Bacillus subtilis*, mais elles liquéfient la gélatine beaucoup moins rapidement. Du centre de la colonie partent de nombreuses ramifications, qui donnent aux vieilles cultures l'apparence d'une colonie de moisissure. Dans les cultures par piqûre, les bacilles se

développent à partir de 1 à 2 doigts au-dessous de la surface ; les cultures ont un aspect nuageux et se ramifient tout autour de la piqûre. Dans les photographies qui accompagnent le travail de M. Kitasato, elles rappellent un peu les cultures en brosse du rouget du porc. L'optimum de température est entre 36 et 38°. A 20-25° les bacilles ne commencent à croître qu'après 3-4 jours. Au-dessous de 14°, ils ne croissent plus du tout. A l'étuve, ils forment des spores déjà au bout de 30 heures, à 20-25° seulement au bout d'une semaine lorsque les couches inférieures de la gélatine sont déjà passablement fluidifiées. Dans les cultures sur gélatine, les bacilles se présentent sous la forme de bâtonnets droits, à bords arrondis, qui forment souvent de longs filaments. Les spores sont rondes, fixées à l'un des bouts et plus épaisses que les bâtonnets ce qui donne à ceux-ci l'apparence d'une épingle. Ces derniers sont mobiles, et se colorent facilement avec les couleurs d'aniline. La méthode de Gram leur est aussi applicable. On peut colorer les spores et les bacilles par le procédé de coloration double de Ziehl. Des fils de soie imprégnés d'une culture sporifère restent virulents pendant plusieurs mois. Nous avons déjà parlé de la résistance des spores à la chaleur. Elles supportent aussi assez bien l'action des agents chimiques. Trempées dans l'acide phénique à 5 p. 100 pendant 10 heures, elles se montrent encore virulentes ; après 15 heures, toutefois, elles sont mortes. Additionnée d'acide muriatique à 0,5p. 100 la même solution d'acide phénique les tue en 2 heures. Elles ne résistent au sublimé à 1 p. 1000 que 3 heures, et 30 minutes seulement quand il est mélangé avec 0,5 d'acide muriatique. Les souris inoculées avec une anse de platine de culture pure sous la peau prennent régulièrement le tétanos en 24 heures et meurent en 2 à 3 jours. Pour tuer les rats, les cobayes et les lapins, il faut des doses un peu plus fortes (0,3-0,5 de cmc d'une culture dans le bouillon pour un lapin). A l'autopsie, on ne trouve, au point d'inoculation, que de l'hypérémie et pas de pus. Les bacilles ne s'y retrouvent plus, pas plus que dans la moelle, les nerfs, les muscles, le sang, le foie, la rate, les poumons ou les reins. De même on ne peut, fait que nous avons maintes fois constaté nous-même dans nos propres expériences, provoquer le tétanos par l'inoculation du sang ou de fragments d'organes. Les bacilles du tétanos, inoculés à l'état de pureté, paraissent donc disparaître rapidement de l'organisme mais non sans avoir eu le temps de l'empoisonner par la production d'une ptomaïne spéciale.

Le fait, enfin, que différents expérimentateurs n'ont pas vu dans le pus tétanique les bacilles en tête d'épingle de Nicolaier, tiendrait à ce que le tétanos a été étudié à différents moments de son évolution. Quand les malades ou les animaux d'expérience meurent rapidement, les bacilles forment rarement des spores dans le pus.

Mieux que personne, puisque nous y avons nous-même consacré

de très-nombreuses expériences, nous pouvons nous rendre compte des difficultés qu'a dû vaincre M. Kitasato, aussi ne pouvons-nous que le féliciter d'avoir si heureusement résolu la question de l'origine microbienne du tétanos. Encore combattue par quelques-uns, elle doit dorénavant être admise depuis qu'il en a fourni la preuve péremptoire en isolant le microbe et en produisant le tétanos par son inoculation à l'état de culture pure.

E. F.

Dr C. Fraenkel. — **Les propriétés désinfectantes des crésols, contribution à l'étude de la désinfection** (*Zeitschrift für Hygiene*, VI, 3, p. 321).

On sait depuis les expériences de Laplace que les propriétés désinfectantes des solutions de bichlorure de mercure et de phénol sont considérablement exaltées par l'adjonction d'un acide. Ainsi, l'on voit dans les expériences de contrôle de M. Fraenkel, des spores charbonneuses d'une espèce très résistante, rester vivantes dans des solutions de phénol (pur) à 5 p. 100 pendant 40 jours, tandis qu'une solution d'acide carbolique brut et d'acide sulfurique concentré (mélangés à parties égales) à 2 p. 100 les tue en 14 jours, en moins de deux jours en solution à 4 p. 100, et que dans une solution à 5 p. 100 elles ne peuvent même pas vivre un jour. Les propriétés désinfectantes de l'acide sulfurique n'y sont pour rien, car en solution à 2 p. 100. celui-ci ne tue les spores charbonneuses qu'après 40 jours, à 5 p. 100 qu'au bout de 11 jours. Les recherches soigneuses de M. Fraenkel prouvent qu'il y a là des phénomènes chimiques beaucoup plus complexes ; nous ne pouvons toutefois le suivre ici dans les nombreuses expériences qu'il a faites et nous devons nous borner à en donner les principaux résultats. Il existe dans l'acide carbolique cru des substances, les crésols, peu solubles dans l'eau, mais qui jouissent de propriétés désinfectantes énergiques. Pour que celles-ci puissent entrer en jeu, le crésol doit être dissous par de l'acide sulfurique (ou préférablement par de l'acide chlorhydrique) Ce mélange de crésol et d'acide sufurique (à parties égales) est alors parfaitement soluble dans l'eau. L'adjonction d'un acide a donc pour résultat de rendre solubles les crésols contenus dans l'acide carbolique et d'ajouter leurs qualités désinfectantes si considérables à celles du phénol. Il est toutefois essentiel d'opérer les mélanges à froid ; quand ils s'échauffent par l'adjonction de l'acide sulfurique il se forme des acides sulfo-crésoliques qui le cèdent en force désinfectante aux crésols purs. C'est pourquoi il est avantageux de remplacer l'acide sulfurique par l'acide chlorhydrique.

E. F.

H. Buchner. — **Sur l'action bactéricide du sérum de sang privé de cellules.** (*Centralbl. für Bacteriol. u. Parasit*, V, p. 817).

Dans un précédent numéro (v. t. I, p. 134), nous avons exposé le résultat des recherches de M. Nuttall sur l'action nocive de l'organisme vivant de l'animal à l'égard des bactéries, et nos lecteurs se rappellent sans doute que ce savant avait constaté que le sang frais possède des propriétés bactéricides marquées. Un fait aussi important et aussi nouveau était appelé à susciter de nouvelles expériences; c'est ce qu'a fait M. Buchner qui nous expose dans le présent mémoire ses recherches exécutées en collaboration avec MM. Settmann et Voit. Elles confirment, on le verra, non seulement les résultats obtenus par M. Nuttall, mais apportent encore un grand nombre de faits nouveaux.

Le mieux serait évidemment d'étudier cette question nocive du sang dans l'organisme même. M. Fodor a fait autrefois quelques expériences de ce genre, mais avec cette méthode les résultats sont incertains, puisqu'il est difficile de savoir dans quelles parties de l'organisme les bactéries disparues sont retenues; on pourrait, il est vrai, pratiquer des ligatures, mais ce moyen pourrait porter préjudice à l'intégrité du sang. Il ne reste donc qu'à recueillir le sang aseptiquement, comme l'a fait M. Nuttall et à l'ensemencer avec les microbes que l'on veut étudier. Pour défibriner le sang, opération dont il n'est guère possible de se passer (le sang non défibriné ainsi que celui dont on empêcherait la coagulation par des injections de peptone, donnèrent des résultats identiques), M. Buchner a remplacé avec avantage le sable qu'employait M. Nuttall et qui produit des caillots volumineux, par des perles de verre. Après avoir réparti ce sang dans des tubes à essais, M. Buchner l'ensemença avec des bactéridies charbonneuses dépourvues de spores et avec des bacilles du rouget du porc, et procéda de suite à la numération des germes ensemencés. Deux heures et 5 h 1/2 plus tard il fit une nouvelle numération. M. Buchner put constater nettement, ainsi que le démontrent ses tableaux, l'action nocive du sang. Ainsi on voit, par exemple, les bacilles, de 2.678 au début, tomber à 36 après 2 heures et à 6 après 5 h. 1/2. Toutefois quand ils ont été ensemencés en nombre très considérable, l'action bactéricide s'affaiblit au bout de quelques heures et les bacilles augmentent de nouveau. On les voit alors de 15.205, par exemple, au début, tomber après 2 heures à 492. Au bout de 5 h. 1/2, par contre, leur nombre s'élève à 931. Chauffé pendant une heure à 55° le sang perd ses propriétés nocives, comme l'avait remarqué M. Nuttall, et les bactéries commencent de suite à y pulluler; par contre, maintenu à 6 8° pendant sept jours, il se montre encore actif, moins cependant que le sang frais. M. Buchner a expérimenté avec du sang de lapin et du sang de chien; les deux sont

doués des mêmes propriétés nocives à l'égard des bactéries, mais on constate de notables différences entre les diverses espèces de microbes.

Le *Bacillus pyocyaneus* et un bacille de l'intestin ressemblant à celui du typhus se sont montrés les plus résistants; ceux du typhus et du choléra, le *Bact. coli commune* et le *Bac. fœtidus* sont ceux qui opposent le moins de résistance; la bactéridie charbonneuse et le rouget du porc occupent à cet égard une position intermédiaire.

Pour arriver à déterminer si ces propriétés bactéricides appartiennent aux globules sanguins ou au sérum, les auteurs expérimentèrent séparément avec ces deux éléments. Au début, les résultats furent souvent contradictoires; il faut, en effet, ainsi que le fait remarquer M. Buchner, tenir compte du fait que le sang exerce une double action, l'une nutritive, en raison des éléments assimilables qu'il contient, l'autre destructive. Tantôt c'est l'un des facteurs qui prend le dessus, tantôt l'autre, de là des résultats contradictoires. Pour démontrer cette double action. M. Buchner a fait l'expérience suivante: du sérum sanguin, actif fut mélangé avec des doses croissantes de bouillon alcalin, ensemencé avec des bacilles typhiques et tenu à la température du corps. Un tableau résume les résultats. Il en ressort que dans un mélange de 2 parties de sérum sur 8 de bouillon, les deux actions opposées se contrebalancent. Quand on ajoute davantage de sérum, l'action bactéricide devient plus marquée; quand on augmente la quantité de bouillon, c'est, au contraire, l'action nutritive qui augmente. On voit alors les bactéries augmenter de suite. Ce n'est cependant pas simplement un effet de la dilution du sérum, car mélangé avec cinq fois son volume d'eau stérilisée, ses propriétés bactéricides sont sensiblement les mêmes. Une autre expérience démontre que ce sont les globules qui contiennent des éléments nutritifs qui deviennent assimilables pour les bactéries, quand les globules se décomposent. Du sang que M. Buchner avait fait geler, puis dégeler, ce qui dissout les globules sanguins, se trouva être, en effet, absolument dépourvu de propriétés bactéricides, tandis que le sérum de sang pur, tant celui qui avait été gelé que celui auquel on n'avait pas fait subir cette opération, se montra très actif. Dans ce cas, M. Buchner obtenait le sérum en laissant le sang, recueilli aseptiquement dans des bocaux stérilisés, se coaguler sans défibrination préalable. La chaleur, par contre (55° pendant une demi heure à une heure), fait aussi perdre au sérum ces propriétés bactéricides. Ceci expliquerait peut-être la gravité des lésions qui comme les brûlures, la congélation, etc., détruisent les globules sanguins et fournissent par cela des éléments nutritifs aux microbes qui envahissent la place. Dans ces expériences une action des phagocytes semble donc exclue. Le sérum ne contenait point de cellules, et, en

outre, le sérum gelé et dégelé se montre aussi efficace, ce qui ne serait pas le cas, si l'action bactéricide était le fait des phagocytes, attendu que ceux-ci, ainsi que M. Buchner s'en est assuré par des expériences spéciales, sont tués par la congélation. La substance fibrinogène semble également être hors de cause, une série d'expériences instituées à cet effet en fait foi ; c'est donc le sérum lui-même qui posséderait ces propriétés remarquables.

En quoi consiste cette propriété du sérum, c'est ce que M. Buchner n'a pas encore réussi à trouver, cependant il résulterait de ses expériences qu'elle semble appartenir à la matière albuminoïde du sérum.

Il est bon de remarquer toutefois que les sérums de provenance diverse accusent des différences notables. Ainsi, tandis que le sérum, du sang des chiens et des lapins se montre très nocif, celui des chevaux et des bœufs ne possède pas trace de propriétés bactéricides.

Il existe aussi, nous l'avons déjà dit, des bactéries qui restent insensibles à ces qualités nocives du sérum, et ces dernières ne sont pas non plus illimitées à l'égard des bactéries sur lesquelles elles trouvent à s'exercer. Quand on ensemence, par exemple, de fortes quantités de bacilles typhiques dans le sérum, ceux-ci ne sont pas tués avec la même sûreté. Les plaques montrent bien une forte diminution de bacilles ensemencés, mais tandis que les tubes ensemencés avec des bacilles peu nombreux restent stériles quand on les met à l'étuve, ceux inoculés avec de grandes quantités se troublent après quelques jours ce qui prouve que tous les bacilles n'avaient pas été tués.

D'après M. Buchner 1 millimètre cube de sang de lapin pourrait détruire environ 1.000 germes typhiques, passé cette limite, la destruction n'est plus complète.

E. F.

Dr Franz Nissen. — **Contribution à l'étude de l'action bactéricide du sang** (*Zeitschrift für Hygiene*, VI, 3, p. 487).

De même que M. Buchner dont nous avons déjà analysé le mémoire, M. Nissen cherche à élucider les causes de l'action bactéricide du sang mise en évidence par les travaux de M. Nutall. M. Nissen commence par examiner si l'on pourrait donner à cette action une explication analogue à celle que M. Petruschky a donné de la mort des bactéridies charbonneuses insérées dans le sac dorsal lymphatique de la grenouille. On sait, en effet, que celles-ci périssent, quand on n'élève pas la température de la grenouille ; à 30-35°, au contraire, les bactéridies parviennent à pulluler et provoquent l'infection charbonneuse de l'animal. M. Petruschky, qui est un adversaire déclaré des théories phagocytaires de

M. Metschnikoff, est loin d'admettre que dans le premier cas la mort des bactéridies est amenée par les phagocytes et que, dans le second cas, l'action de ces derniers est entravée par l'élévation de la température, et il s'est fabriqué une théorie à lui pour expliquer l'immunité de la grenouille à l'égard du charbon. Selon M. Petruschky, celle-ci se résoudrait en une question d'assimilation. Les éléments nutritifs que le corps de la grenouille offre à la bactéridie seraient, à la température ordinaire (température de la chambre), dans un état qui empêcherait leur assimilation par les bactéridies. Lorsqu'on chauffe la grenouille, cet état se modifierait, et les éléments nutritifs deviendraient assimilables. La mort des bactéridies dans le corps de la grenouille serait ainsi due à une véritable inanition. Bien que cela soit, à notre avis, faire trop d'honneur à la théorie de M. Petruschky, M. Nissen s'est demandé si elle n'expliquerait pas aussi l'action bactéricide du sang. La mort des bactéries inoculées serait alors due également à ce que, dans ce milieu, elles ne trouvent pas dans une forme assimilable, les éléments nutritifs qui leur conviennent. Si cette hypothèse était juste, l'adjonction d'une petite quantité de substances nutritives au sang, devrait faire cesser l'action nocive, surtout si l'on expérimente, comme l'a fait M. Nissen, avec une bactérie peu exigeante en fait de nourriture, le coccus aquatilis, qui prospère dans l'eau pure, et qui est en même temps très sensible à l'action du sang. Pour éclaircir ce point M. Nissen se servait d'une méthode semblable à celle de M. Buchner ; le sang recueilli aseptiquement est défibriné et réparti dans des tubes stérilisés, ensemencé avec les bactéries que l'on veut étudier, et sa teneur en bactéries déterminée de suite après l'ensemencement et ensuite à des intervalles variés au moyen de cultures sur plaques. Les substances nutritives ajoutées au sang se composaient de bouillon (2 gouttes de bouillon sur 7 de sang) ou d'une solution de sulfate de magnésie et de chlorure de chaux (une partie de chacun de ces sels dans 1000 parties d'eau). Or, il résulte des expériences de M. Nissen que l'adjonction de ces substances au sang ne lui enlève rien de ses qualités nocives. Tant dans le sang pur, que dans celui rendu plus nutritif, le coccus aquatilis ensemencé au nombre de plusieurs milliers disparaît presque complètement au bout d'une heure. Il en fut de même dans une série d'expériences faites avec les bacilles du typhus, du choléra asiatique et du charbon. M. Nissen en conclut que l'inanition n'est pour rien dans la mort des bactéries tirées par l'action nocive du sang. Du reste, la rapidité de celle-ci — souvent quelques minutes suffisent à la destruction des bactéries ensemencées dans le sang — suffirait pour exclure cette hypothèse.

M. Nissen étudie ensuite l'action nocive du sang sur un grand nombre de microorganismes. Des nombreux tableaux résumant ses expériences on peut déduire que cette action varie énormément selon la nature des bactéries ensemencées. Parmi les pathogènes,

ce sont les microorganismes du choléra, du charbon, du typhus et de la pneumonie (Friedlaender), qui sont détruits le plus énergiquement par le sang, tandis que les *Staphyl. pyog. aureus* et *albus*, le streptococcus de l'érisypèle, les bacilles du choléra des poules et du rouget du porc, le *Proteus hominis*, diminuent à peine dans le sang, et commencent à augmenter de nombre déjà au bout de quelques heures. Parmi les saprophytes, les plus sensibles sont le *Coccus aquatilis*, le *Bacillus acidi lactici*, les *Bac. subtilis* et *megaterium*, tandis que le *Proteus vulgaris*, le *Bac. fluorescens liquefaciens*, le *Bac. aquatilis*, le *Bac. prodigiosus* se montrent très résistants. Des différences analogues, on se le rappelle, ont été signalées par M. Buchner. Au bout de 20 heures par exemple les résultats sont donc sensiblement différents selon l'espèce ensemencée. Quelquefois toutes les bactéries sont mortes, d'autres fois il en reste quelques unes, d'autres fois encore leur nombre est à peu près resté le même, enfin elles peuvent avoir commencé à pulluler et se trouvent alors en nombre innombrable. En général l'action nocive du sang atteint un maximum après 5-10 minutes. Pour le bacille du choléra il faut compter 20-40 minutes. Les bactéridies charbonneuses sont souvent detruites en 10-20 minutes. Pour le bacille typhique la destruction complète ne s'obtient qu'après 2 heures. Il est égal d'ensemencer le sang avec 50,100, 10,000 ou 100,000 bactéries; mais quand on ensemence une quantité énorme on voit alors l'action bactericide du sang diminuer. De même que MM. Buchner et Nutall, M. Nissen a constaté que le sang perd ses qualités nocives quand il est vieux de plusieurs heures ou qu'il a été chauffé à 54-55° pendant 20 à 30 minutes.

Dans une troisième série d'experiences M. Nissen examine si l'injection, dans le sang, d'un grand nombre de microorganismes, affaiblit ses propriétés nocives. Ce fait valait la peine, en effet, d'être élucidé, puisque, dans les expériences faites en dehors de l'organisme l'action nocive du sang peut être attenuée quand on ensemence des quantités très fortes de bactéries. Le résultat fut que lorsqu'on injecte de très fortes quantités, par exemple du *micrococcus aquatilis*, le sang perd de ses qualités bactéricides. Des cultures filtrées au filtre Chamberland, par contre, n'enlèvent pas au sang ces propriétés bactéricides; l'action affaiblissante de l'injection des cultures vivantes ne peut donc pas s'expliquer par l'effet de l'apport de substances solubles contenues dans les cultures, aussi M. Nissen pense-t-il que l'affaiblissement de l'action bactéricide du sang est dans ce cas, la suite du travail de destruction des bactéries injectées. Celles-ci, en effet, ainsi que M. Wyssokowitsch l'avait déjà montré, disparaissent très rapidement du sang (en 40 minutes).

Pour arriver à déterminer le facteur principal dans cette action bactéricide du sang, M. Nissen a encore employé du sang rendu

incoagulable, soit par des injections de peptone soit par l'adjonction d'une solution à 25 0/0 de sulfate de magnésie, ainsi que du sérum de sang privé de globules sanguin. Ce dernier s'est montré tout aussi nocif à l'égard des bactéries que le sang défibriné. Quant au sang rendu incoagulable par la peptone, il se montre également nocif; par contre, celui additionné de sulfate de magnésie perd toute son action bactéricide. De ces faits, M. Nissen tire quelques rapprochements entre bactéries et leucocythes. La coagulation du sang suppose, en effet (d'après les travaux de M. Schmidt), une destruction des leucocythes. Or, dans le sang aditionné de sulfate de magnésie le sérum perd la propriété de détruire les leucocythes; dans le sang peptonisé, ceux-ci semblent avoir acquis une force de résistance plus grande; de là manque de coagulation. Mais lorsqu'on ajoute au sang peptonisé des leucocythes pris dans des glandes, il se coagule tandis que le sang additionné de sulfate de magnésie ne se coagule plus dans ce cas. Ainsi le sang peptonisé détruirait les leucocythes et les bactéries, tandis que le sang additionné de sulfate de magnésie ne le ferait plus. Il semble donc probable à M. Nissen que le principe qui, dans le sang en voie de coagulation détruit les leucocythes, est le même que celui qui détruit les bactéries. L'action bactéricide du sang résiderait ainsi, en dernier lieu, dans le sérum sanguin. E. F.

Sergio Pansini. — **De l'action de la lumière solaire sur les microorganismes** (*Rivista d'igiene*, 1889).

Le mémoire de M. Pansini confirme, en les étendant et en les précisant, les connaissances que nous devons sur l'action stérilisante des rayons solaires, aux travaux de MM. Downes et Blunt, Tyndal, Iamieson, Duclaux, Arloing, Nocard, Straus, Roux, Gaillard, etc. Dans ses expériences, l'auteur exposait aux rayons du soleil soit des tubes d'agar ou des pommes de terre fraîchement inoculés, soit des cultures en plein développement, qu'il inoculait ensuite sur des milieux nutritifs frais, et comparait les résultats avec ceux donnés par des cultures également exposées au soleil mais protégées contre leur action par une cloche de verre noirci. La température était généralement de 30° à 40°. Les espèces étudiées ont été le *Bac. prodigiosus*, le *Bac. violaceus* de l'eau, le *B. pyocyaneus*, les bac. du charbon, du choléra, de la septicémie des souris et le *Staph. albus*. Voici les conclusions auxquelles arrive l'auteur :

1° Même la lumière diffuse a une action retardante sur le développement des microorganismes ;

2° La lumière directe du soleil a réellement une action stérilisante sur les microorganismes, en outre d'une action retardante sur leur développement ;

3° L'action stérilisante proprement dite se produit quand les rayons du soleil tombent perpendiculairement ou à peu près sur la surface des cultures ;

4° L'action stérilisante et retardante de la lumière exige pour produire son effet un temps variable selon les différents microorganismes ;

5° Le degré de l'action de la lumière varie suivant le terrain de culture ;

6° Les terrains nutritifs exposés à la lumière restent appropriés à la culture des microorganismes ;

7° Dans le bouillon les spores du charbon résistent à l'action de la lumière à peu près autant ou peut-être un peu moins que les bacilles ;

8° Desséchées les spores résistent plus longtemps que dans le bouillon ;

9° Les spores sont tuées par la lumière en tant que spores et non pas à l'état de bacilles naissants ;

10° La lumière retarde mais n'empêche pas la sporulation ;

11° La lumière modifie la production du pigment, ordinairement en en diminuant l'intensité, quelquefois en en altérant la nature ;

12° Avant de tuer les bacilles du charbon, la lumière en atténue la virulence ; ce charbon atténué n'avait pas dans mes expériences de qualités vaccinales ; les cultures suivantes lui font récupérer sa virulence.

Les conclusions relatives aux spores du charbon sont particulièrement intéressantes. On se rappelle, en effet, que M. Arloing avait trouvé le fait curieux que les spores sont douées d'un moindre pouvoir de résistance à l'égard de la lumière du soleil que les bacilles. Pour l'expliquer M. Nocard avait admis que les spores n'étaient pas tuées en tant que spores mais au moment de leur germination, à l'état de bacilles naissants, quand elles sont encore plus faibles que les bacilles adultes. M. Strauss avait appuyé cette hypothèse en montrant que dans l'eau distillée, dans laquelle elles sont incapables de germer, les spores se montrent plus résistantes que dans le bouillon. A ceci M. Arloing répondit en prouvant que les spores sont également détruites en peu d'heures dans du bouillon exposé au soleil mais tenu dans de la glace à une température ne permettant pas la germination des spores. Dans son mémoire M. Roux, de son côté, émet l'hypothèse que l'oxydation des bouillons de culture sous l'action de la lumière les modifie de façon à empêcher la germination des spores, tandis qu'ils pourraient encore nourrir les bacilles ; ainsi s'expliquerait la moindre résistance apparente des spores. Dans ses expériences M. Pansini a trouvé que les bacilles étaient tués dans ce bouillon entre 1 h. et 2 h. 1/2 et les spores entre 1/2 h. et 2 heures. Ici l'hypothèse de M. Roux serait inapplicable, attendu qu'après l'exposition au soleil, les spores étaient

ensemencées dans un milieu nutritif frais et cependant, passé lesdites limites, elles ne germaient pas. Desséchées, par contre sur des lamelles de verre, les spores ne sont tuées qu'après 6 à 8 heures, Elles sont toutefois encore vivantes après une exposition de 12 jours. quand on les dessèche sur des fils de soie, différence provenant de ce que les rayons solaires stérilisent la surface du fil, mais ne pénètrent pas dans son intérieur. L'hypothèse de M. Nocard ne paraît pas non plus admissible à M. Pansini, car en outre de l'expérience de M. Arloing, il a exposé des spores dans du bouillon en goutte pendante au soleil en les observant d'une façon continue sous le microscope. Or, jamais il n'a constaté de commencement de germination. Cherchant à son tour une explication du phénomène, M Pansini suppose que la germination proprement dite est précédée et préparée par des modifications physico-chimiques, se produisant avec plus de rapidité dans un milieu nutritif que dans un milieu sans qualités de cette nature. C'est dans cet état préparatoire que les spores seraient atteintes par l'action de la lumière.

E. F.

Prof. Dr v. J. Fodor. — **Nouvelles recherches sur l'action bactéricide du sang et sur l'immunisation** (*Centralbl. für Bakteriol. u. Parasitenk*, VII, p. 753).

Les lecteurs de ces *Annales* connaissent déjà les importants travaux de MM. Nuttall et Buchner sur les propriétés bactéricides du sang. Différents expérimentateurs ont contrôlé ces expériences et sont tous arrivés à des résultats confirmant les faits établis par ces auteurs. Plus récemment encore, M. de Fodor, de Budapest, vient de s'occuper de cette question, et son travail mérite l'attention, car les faits nouveaux qu'il contient nous paraissent de nature, en cas de confirmation, à prendre rang parmi les découvertes les plus importantes de la bactériologie.

Dans la première partie de son travail M. von Fodor commence par reprendre les expériences de ses devanciers. Il s'est servi pour cela d'une méthode analogue. Le sang recueilli avec les précautions nécessaires était réparti dans de petits ballons stérilisés qui contenaient des perles de verre servant à le défibriner d'après le procédé de M. Nuttall. Il l'ensemençait ensuite avec des cultures charbonneuses et procédait de suite et après des intervales divers à des numérations permettant de constater l'accroissement ou la diminution des bacilles ensemencés. Les résultats obtenus par M. von Fodor confirment les faits déjà acquis, mais étendent beaucoup nos connaissances relatives à cet intéressant ensemble de faits. Nous transcrivons ici les conclusions auxquelles il arrive, en se fon-

dant sur des expériences précises, dont on peut lire le détail dans le mémoire original :

1° Le sang artériel possède des qualités bactéricides beaucoup plus considérables que le sang veineux.

2° Les bactéries sont beaucoup plus rapidement détruites dans le sang frais que dans le sang qui n'est employé que plus tard (16 à 24 heures après avoir été recueilli).

3° Les propriétés bactéricides du sang diminuent dans une atmosphère d'oxygène ou d'acide carbonique.

4° On ne constate pas de différence appréciable dans cette propriété du sang quand on commence par le purger des gaz qu'il contient. (Ces deux dernières expériences avaient pour but de constater la part éventuelle que prennent les gaz du sang à ses propriétés bactéricides).

5° Le sang de lapins empoisonnés par de l'oxyde de carbone ne détruit plus les bactéries.

6° La circulation du sang ne semble jouer aucun rôle dans l'explication de ces phénomènes, attendu qu'il n'y a pas de différence à cet égard entre du sang au repos et du sang agité constamment en sens circulaire.

7° La propriété bactéricide du sang augmente avec la température. L'optimum de température se trouve entre 38° et 40°. Au-dessus de 40° elle diminue rapidement. Il est à noter qu'à partir de 43° les bactéries diminuent de nouveau de nombre, ce qui tient toutefois à la température trop élevée pour leur croissance et n'a plus rien à voir avec les qualités bactéricides du sang.

8° Les propriétés bactéricides du sang sont loin d'être toujours les mêmes chez tous les individus d'une même espèce. Il est donc fort plausible d'admettre que la disposition individuelle à l'égard des maladies infectieuses est en rapport essentiel avec les qualités bactéricides du sang.

Dans la seconde partie de son mémoire l'auteur aborde un nouveau côté de ce problème, en recherchant par quels moyens on parvient à modifier cette propriété du sang. On a déjà vu plus haut que la température la favorise. M. von Fodor examine maintenant si l'emploi de substances chimiques n'amènerait pas peut-être le même résultat. Dans cette série d'expériences il procédait ainsi : une première prise de sang servait à déterminer le degré de la force bactéricide du lapin d'expérience. Pour cela une première plaque était faite de suite et une seconde deux heures après. On lui administrait alors la substance choisie au moyen de la sonde stomacale et quelque temps après on examinait si les propriétés bactéricides de son sang avaient augmenté ou diminué. M. von Fodor s'adressa d'abord à quelques acides employés de tout temps contre la fièvre et les maladies infectieuses puis à différentes substances. Voici les résultats :

1° L'acide chlorhydrique n'exerça pas une action considérable sur la propriété bactéricide du sang (1 centimètre cube d'acide dans 150 centimètres cubes d'eau pris en 3 fois dans l'espace de 2 heures);

2° L'acide tartrique (5 grammes dans 150 centimètres cubes d'eau) loin de l'augmenter, la diminue plutôt;

3° Les résultats ne furent pas meilleurs avec la quinine, (0,6-1 gramme) qui paraît même diminuer l'action bactéricide du sang;

4° Le chlorure de sodium (3-5 grammes) paraît augmenter légèrement l'activité microbicide du sang;

5° Le carbonate d'ammonium (2-5 grammes) paraît agir de même. Ainsi, pour citer un exemple, avant l'injection le sang détruisait en 2 heures 27 p. 100 des bactéries, après l'injection 38 p. 100.

6° Le phosphate de sodium (3-5 grammes) augmente considérablement la force bactéricide du sang. Avant l'injection la diminution des bactéries dans le sang est de 32 p. 100, après l'injection de 60 p. 100;

7° Le carbonate de soude (3-5 grammes) augmente d'une façon remarquable l'action microbicide du sang : avant l'injection diminution de 23 p. 100, après l'injection de 76 p. 100;

8° Le carbonate de potasse (3-5 grammes) exerce également une action favorable très marquée sur les propriétés bactéricides du sang : avant l'injection diminution de 48 p. 100, après l'injection de 77 p. 100;

9° Le bicarbonate de soude (3-5 grammes) agit de la même façon : diminution de 29 p. 100 avant l'injection, de 83 p. 100 après.

Il résulte de ces expériences que l'*alcalinisation du sang* augmente notablement ses qualités bactéricides. Ceci serait d'accord, ajoutons-le, avec la théorie de M. Behring, qui explique l'immunité des rats à l'égard du charbon par la plus grande alcalescence de leur sang. M. v. Fodor a d'ailleurs constaté cette action bactéricide des alcalins dans la gélatine. En effet, dans de la gélatine nutritive, les bactéridies charbonneuses s'accroissent de suite, ce que l'on peut constater par des numérations effectuées 2 et 4 heures après l'ensemencement, tandis que dans une gélatine additionnée de 1 p. 1000 de carbonate de soude, elles avaient diminué de 69 p. 100 après 2 heures et de 84 p. 100 après 4 heures. Dans une gélatine contenant 2 p. 1000 de carbonate de soude la diminution était de 70 p. 100 après 2 heures, de 59 p. 100 après 9 heures. L'augmentation de la force bactéricide du sang par l'ingestion des carbonates de soude et de potasse, serait donc probablement due simplement à l'action désinfectante des alcalis qui ont passé dans le sang.

Dans une 3e série d'expériences l'auteur a cherché à appliquer pratiquement ces résultats et a recherché si l'on ne pourrait arri-

ver, par l'emploi des alcalis, c'est-à-dire par une alcalinisation de l'organisme, à empêcher la bactéridie charbonneuse inoculée de s'y reproduire. Trois lapins, dont deux avaient ingéré une demi-heure avant 2 grammes de bicarbonate de soude, reçurent 1/3 de seringue Pravaz d'une culture de charbon virulente dans la jugulaire. Ces deux lapins reçurent les jours suivants trois fois par jour 2 grammes de bicarbonate de soude. Le lapin témoin succomba au charbon le 3e jour. Un des lapins traités mourut aussi le 3e jour, mais de catarrhe intestinal (le microscope ne décela pas de bactéridies dans le sang et dans la rate), l'autre resta en vie. Une seconde expérience dans laquelle la dose employée fut d'un gramme donna les mêmes résultats. M. von Fodor employa alors, pour éviter l'irritation du canal intestinal, le bicarbonate de soude en injections sous-cutanées (0,5-1 gramme, 3 fois par jour, de suite ou seulement plusieurs heures — jusqu'à 24 heures — après l'infection). Les résultats furent également encourageants. L'auteur résume ainsi l'ensemble de ces expériences : tous les lapins témoins moururent, soit 100 p. 100. Des lapins traités 15, soit 6 p. 100 succombèrent au charbon ; 47 p. 100 moururent de causes inconnues (charbon douteux) ; 37 p. 100 restèrent en vie jusqu'au jour où l'expérience cessa (7e jour).

Ces expériences ne sont certainement pas encore assez nombreuses pour en tirer des conclusions absolues ; cependant il semble bien en résulter que l'alcalinisation du sang augmente ses qualités bactéricides et par conséquent aussi la résistance de l'organisme aux maladies infectieuses.

Au moment où le mémoire de M. von Fodor était sous nos yeux, nous avons lu dans la *Semaine médicale*, n° 25, de 1890, que M. Gaudinau préconisait contre la rhino-bronchite spasmodique ou fièvre de foin, probablement aussi une maladie bactérienne, l'emploi du bicarbonate de soude à fortes doses. Ce traitement, s'il est efficace, serait une application pratique des théories de M. von Fodor.

E. F.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel-de-Ville), *Mai* 1890

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
			TEMPÉRAT.	PLUIE —	VENT			
	BACTÉRIES	MOISISSURES	moyenne	Hauteur en millimèt.	Direction moyenne	Force moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 19 du 4 Mai au 10 Mai 1890 . .	600	»	13° 1	45mm,8	Var.	12km 1	185	156
N° 20 du 11 » au 17 » » . .	1.000	600	13 ,9	1 ,9	SW	13 9	180	140
N° 21 du 18 » au 24 » » . .	4.170	330	17 ,0	11 ,5	Var.	12 4	192	130
N° 22 du 25 » au 31 » » . .	3.000	400	14 ,0	10 ,2	NE	14 9	175	117
» » » » . .	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	2.190	333	14°,5	69mm,4	Var.	13km 9	632	543
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques*, sont comprises: les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Collecteur du Boulevard Sébastopol*).

Mai 1890. Bactéries = 6.420 Moisissures = 29.500 Température = 14°,7

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Mai 1890. Bactéries = 148 Moisissures = 129 Température = 14°,5

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Mai* 1890

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Mai 1890	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	930	930	»	Canalis. = 900 bactéries
» de la Dhuis à Ménilmontant.	2.300	1.890	»	Canalis. = 2.000 »
» » »	»	»	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	30.000	28.650	16°,2	»
» de la Seine à Ivry	10 000	27.340	16°,3	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz . . .	18.000	31.060	»	Hauteur = 1m,55
» de la Seine au pont de l'Alma	40.000	77.525	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	62.000	36.190	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Eau du puits de la Maison départ. de Nanterre .	244	»	»	»
» de ferme Crépin (Gennevilliers)	6.900	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Eau du drain de Saint-Maur	2.300	2.110	»	»
» » »	»	»	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	53.750.000	13.315.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est	»	19.440.000	»	»
» » traitée à Bondy.	3.500	74.250	»	»

BIBLIOGRAPHIE

Dr P. Baumgarten. — **Rapport annuel sur les progrès dans l'étude des microorganismes pathogènes** (4me année, seconde moitié).

Dans le numéro de février de ces *Annales* nous avons annoncé la publication de la première moitié du rapport annuel de M. Baumgarten, sur les progrès dans l'étude des microorganismes pathogènes. Aujourd'hui nous avons le plaisir d'annoncer celle de la seconde moitié, impatiemment attendue, pouvons-nous dire, par tous ceux qui ont eu l'occasion de se servir de la première partie et des précédents rapports de M. Baumgarten. On y trouvera l'analyse, souvent très détaillée, de 413 mémoires, concernant les bacilles non encore décrits dans la première moitié, les spirilles, l'actinomyces, les hyphomycètes, les protozoaires, les saprophytes, la microbiologie en général et ses méthodes.

E. F.

PUBLICATIONS RÉCENTES

PROTOZOAIRES ET SCHIZOPHYTES

Prof. G. Sormani. — Ancora sui neutralis anti del virus tetanigeno. Encore sur la neutralisation du virus tétanique (*Riforma medica*, janvier 1890).

Lewith. — Ueber die Ursache der Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen hohe Temperaturen. Sur la cause de la résistance dont les spores sont douées à l'égard de températures élevées. (*Archiv für experim. Pathologie u. Pharmakologie*, XXVI, p. 341.)

Putz. — Ueber den gegenwärtigen Stand der Schutz u. Nothimpfung zur Tilgung von Thierseuchen. Sur l'état actuel de la question de la vaccination pour arrêter les épizooties (*Thiermed. Vortrage*, I, 8).

W. Kaupe. — Studien über die Wirkung einiger Desinficientia. Études sur l'action de quelques désinfectants. *Thèse*, Würzburg, 1889.

Gruber. — Die Conjugation der Infusorien (*Biol. Centralblatt*, Bd. X, n° 5 und 6, 1890).

Pouchet (G.). — Contribution à l'histoire des Noctiluques (*Journ. de l'Anatomie*, t. XXVI, n° 2, pp. 104-125, pl. IV).

Erlanger (G.). — Zur Kenntniss einiger Infusorien (*Zeitschr. für Wiss. Zool.*, Bd. XLIX, Heft. 4, pp. 649-662, t. XXIX).

Osler (W.). — Ueber die in Dysenterie und dysenterischen Leberabscess en vorhandene Amœba. Sur les amibes qui se trouvent dans la dysenterie et dans les abcès dysentériques du foie (*Centralblatt für Bacteriologie*, VII, Bd. n° 23, p. 736).

H. Beisswaenger. — Zur Verbreitung des Milzbrandes in Würtemberg. De l'extension du charbon dans le Würtemberg (*Zeitschrift für Hygiene*, VII, p. 179).

Ernst Almquist. — Untersuchungen über einige Bacteriengattungen mit Mycelien. Recherches sur quelques espèces bactériennes produisant des mycéliums (*Zeitschrift für Hygiene*, VIII, p. 189).

L. Pfeiffer. — Beiträge zur Kenntniss der pathogenen Gregarinen. Contributions à la connaissance des grégarines pathogènes *Zeitschrift für Hygiene*, VIII, p. 309).

Von Lingelsheim. — Beiträge zur Aetiologie des Milzbrandes. Contributions à l'étiologie du charbon (*Zeitschrift für Hygiene*, VIII, p. 201).

A. Celli et E. Marchiafava. — Il reperto del sangue nelle febbri malariche invernali. Le sang dans les fièvres paludéennes hivernales (*Riforma medica*, avril 1890).

Kerry, Richard. — Ueber die Zersetzung des Eiweisses durch die Bacillen des malignen Oedems. Sur la décomposition de l'albumine par les bacilles de l'œdème malin (*Sityzungsberichte der Kais. Akademie der Wissenschaften. Wiener Monatshefte für Chemie*, X, n° 10, 1889).

Braunschweig (N.). — Ueber Allgemeininfection von der unversehrten Augenbindehaut aus. Sur l'infection générale procédant de la conjonctive intacte (*Fortschritte der Medicin*, 1889, n° 24).

Ruffer (A.). — On the phagocytes of the alimentary canal. Sur

les phagocytes du canal alimentaire (*Quart. Journ. of microscop. Science*, 1890, p. 484).

Prudden, Mitchell. — On the germicidal action of bloodserum and other body fluids. Sur l'action germicide du sérum de sang (*Medical Record*, 1890, January 25).

Bang. — Die Tuberculose unter den Hausthieren in Dänemark (*Deutsche Zeitschrift für Thiermedicin u. vergl Pathologie*, XVI, p. 353).

De Blasi et Frasalli. — Ricerche sulla rabbia. Recherches sur la rage (*Riforma medica*, 1890.)

Dr S. Kabrhel. — Ueber die Einwirkung des künstlichen Magensaftes auf pathogene Mikroorganismen. De l'action du suc gastrique artificiel sur les microorganismes pathogènes (*Archiv für Hygiene*, X, p. 283).

Dr C. Haegler. — Zur pyogenen Eigenschaft von Pneumoccus Fränkel-Weichselbaum. Des propriétés pyogènes du pneumocoque de Fränkel-Weichselbaum (*Fortschritte der Medicin*, VIII, p. 365).

Dr A. Carl. — Ueber die Anwendung der Anilinfarbstoffe als Antiseptica. Sur l'emploi des couleurs d'aniline comme antiseptiques (*Forschritte der Medicin*, VIII, p. 371).

Kowalski. — Bakteriologische Untersuchungen über die Influenza. Recherches bactériologiques sur l'influenza (*Wiener klin. Wochenschrift*, 1890, nos 13 et 14).

Prior (J.). — Bakteriologische Untersuchungen über die Influenza u. ihre Komplicationen. Recherches bactériologiques sur l'influenza et ses complications (*Münchener med. Wochenschrift*, 1890, nos 13-15).

Lewy (E.). — Bakteriologische Befunde bei Influenza. Résultats fournis par l'examen bactériologique de cas d'influenza (*Berl. klin. Wochenschrift*, 1890, no 7).

Schneidemuhl. — Ueber Influenza bei den Hausthieren. De l'Influenza chez les animaux domestiques (*Deutsche med. Wochenschrift*, 1890, no 8).

Prof. Dr Guillebeau. — Zur Histologie des multilocul. Echinococcus. Contribution à l'histologie de l'échinoccocus multiloculaire (*Virchow's Archiv.*, CXIX, p. 108).

Dr W. Krause, Dr Pansini et Dr Pasquale. — Influenzastudien, Études sur l'influenza (*Centralblatt für Bakteriol und. Parasitenkunde*, VII, 657).

Emma Strub. — Ueber Milchsterilisation. Sur la stérilisation du

lait. (*Centralblatt für Bakteriologie u. Parasitenk.*, VII, pp. 609-665-721).

Dr P. Ortmann et Dr E. O. Samter. — Beitrag zur Localisation des *Diplococcus pneumoniæ* (Fraenkel). Contribution à l'étude des localisations du *Diplococcus pneumoniæ* de Fränkel (*Virchow's Archiv.*, vol. CXX, p. 94).

Prof. Ed. Perroncito. — Sulle malattie del bestiame in Sardegna. Sur les maladies du bétail en Sardaigne (Publié par le ministère de l'Intérieur, direction de la salubrité publique, 1890).

Gustav Kabrhel. — Ueber das Ferment der Milchsaüregährung in der Milch. Sur le ferment de la fermentation lactique dans le lait (*Allgem. Wiener med. Zeitung*, 1889, nos 52 et 53).

Weichselbaum. — Bakteriologische und pathologisch-anatomische Untersuchungen über Influenza u. ihre Complicationen. Recherches bactériologiques, pathologiques et anatomiques sur l'influenza et ses complications (*Wiener Klin. Wochenschrift*, 1890, nos 6-10).

Marmorek. — Bakteriologischer Beitrag zur Kenntniss der Influenza. Contribution bactériologique à la connaissance de l'influenza (*Wiener Klin. Wochenschrift*, 1890, nos 8 et 9).

F. Fischel. — Beobachtungen während der Influenza-Epidemie. Observations pendant l'épidémie d'influenza (*Prager med. Wochenschrift*, 1890, n° 9).

G. E. Cartwright Wood. M. D. — Enzyme action in lower organisms. De l'action zymotique des organismes inférieurs (tome I des *Laboratory Reports issued by the Royal college of Physicians Edingburgh*, p. 263).

Dr G. Bordoni-Uffreduzzi et Dr G. Gradenigo. — Ueber die Aetiologie der Otitis media. Sur l'étiologie de l'otite moyenne (*Centralblatt für Bakteriologie u. Parasitenk.*, VII, p. 529 et 556).

Danziger. — Tuberculose bei einem Hahn. Tuberculose chez un coq (*Allgem. med. Centralzeitung*, 1889, n° 88).

Dr Ad. Heider. — Ueber das Verhalten der Ascosporen von *Aspergillus nidulans* (Eidam) in Thierkörper. Sur la manière de se comporter des ascospores de l'*Aspergillus nidulans* (Eidam) dans le corps de l'animal (*Centralbl. für Bakteriol. und Parasitenkunde*, VII, p. 553).

G. Mandry. — Zur Kenntniss des Friedländerschen Bacillus u. einer Abart desselben. Contribution à la connaissance du bacille de Friedländer et d'une de ses variétés (*Fortschritte der Medicin*, VIII, n° 6).

Dr M. Popoff. — Kann das Kreatin eine nahrhafte Substanz für

pathogene Bakterien und eine Quelle der Bildung von Toxinen sein. La créatine peut-elle constituer une substance nutritive pour les bactéries pathogènes et contribuer à la formation des toxines (*Centralblatt für Bakteriol. u. Parasitenkunde*, VII, p. 506).

Dr R. Krueger. — Beitrag zum Vorkommen pyogener Kokken in der Milch. De la présence de micrococcus pyogènes dans le lait (*Centralbl. für Bakteriol. u. Parasitenkunde*, VII, p. 590).

Oscar Katz. — Experimental researches with the microbe of chicken-cholera. Recherches expérimentales sur le microbe du choléra des poules (*Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*, IV, 26 juin, 1889).

Dr W. Kruse. — Ueber Blutparasiten. Des parasites du sang (*Virchow's Archiv.*, vol. CXX, p. 541 ; première communication).

Fazio. — I microorganismi nei vegetali usati freschi nell' alimentazione. Les microorganismes dans les végétaux employés à l'état frais dans l'alimentation (*Rivista internazionale d'Igiene*, I, nos 1-3).

Mirto, Girolamo. — Sulla costanza morfologica dei micrococchi. Sur la constance morphologique des micrococcus (*Bolletino della Società italiana dei microscopisti*, I, p. 6).

Dr C. Puccinelli. — Il *Fucus crispus* nella preparazione dei terreni nutritivi dei batteri. Le *Fucus crispus* dans la préparation des milieux nutritifs pour les bactéries (*Estratto dal Bulletino della R. Accademia Medica di Roma*, XVI, fasc. 5).

A. Scala et G. Alessi. — Sui rapporti tra la vita dei microorganismi aquatili e la composizione delle acque. Sur les rapports entre la vie des microorganismes aquatiles et la composition de l'eau (*Bulletino della Reale Accademia medica di Roma*, XV, fasc. 8).

Santori Saverio. — Su di alcuni microorganismi somiglianti a quelli del tifo addominale riscontrati in alcune acque potabili di Roma. Sur quelques microorganismes ressemblant à ceux du typhus abdominal rencontrés dans quelques eaux potables de Rome (*Bulletino della Reale Accademia medica di Roma*, XV, fasc. 8).

Rieck u. Schade. — Ueber Desinfection von Jauche. Sur la désinfection du purin (*Archiv fur wissenschaftliche und praktische Thierheilkunde*, XVI, p. 297).

L'Éditeur-Gérant,
Georges CARRÉ.

Tours. — Imprimerie DESLIS FRÈRES

ANNALES

DE MICROGRAPHIE

SUR QUELQUES PHASES DU DÉVELOPPEMENT DU MICROBE DU CHOLÉRA

PAR

G. F. DOWDESWELL, M. A., F. L. S., etc. etc.

Peu de microbes ont attiré plus l'attention que le bacille-virgule depuis sa première et mémorable découverte dans des cas de choléra par M. le Dr R. Koch. Sa grande importance comme cause présumée d'une maladie qui est l'un des plus fatals parmi les fléaux épidémiques qui affligent l'humanité, aurait à elle seule suffi pour cela, mais sa morphologie également présentait jusqu'à un certain degré des obscurités et des irrégularités comme l'indique déjà l'étrange dénomination de « bacille-virgule » que lui a donné le savant qui l'a découvert. On reconnut toutefois bientôt que les formes semi-circulaires ou en virgules n'étaient que les segments d'un spirille qui se détachent quand le microbe a atteint son plein développement, ou qui (ainsi qu'on le voit généralement sur les préparations microscopiques séchées et chauffées de la façon habituelle) divisent le spirille presque entièrement en ses cellules constituantes. Ce fait avait du reste, déjà été décrit antérieurement (1) et le même terme de « virgule » (en anglais « *commas* », comme en allemand) avait été employé dans le cas de vulgaires spirilles saprophytes.

Peu après, une autre phase morphologique fut décrite et dessinée par M. le Dr E. Klein (2) qui a constaté qu'on trouve

(1) Procedings Royal Society (London), XXVII, 1878, p. 484.
(2) Procedings Royal Society, 1885 et suiv.

dans de vieilles cultures du microbe des cercles de différentes grandeurs contenant des vacuoles et qui, après s'être brisés, reforment des « virgules ». Les observations de M. Klein n'attirèrent que peu l'attention, bien qu'elles concernassent des formes notoirement inconnues et encore sans précédent dans la biologie des schizophytes et qu'elles soulevassent une question importante touchant la classification de ce microorganisme.

Ceci se passait il y a 4 et 5 ans ; je donnai à cette époque une brève analyse de cette question au point de vue microscopique et mycologique à la Société Royale de microscopie de Londres (*Journal R. M. S.*, 1885, t. II, p. 953). Plus tard, j'eus l'occasion de faire et d'examiner de nombreuses cultures de ce microbe provenant de sources diverses, mais je n'arrivai pas alors à reproduire les formes décrites par le Dr Klein. Ce n'est que l'année dernière, en 1889, que je réussis à le faire. Elles apparurent d'une manière spontanée pour m'exprimer ainsi (c'est-à-dire sans avoir fait subir de traitement spécial aux cultures), dans des cultures venant de deux sources différentes, dont l'une, je crois, avait été obtenue lors du dernier choléra de Paris et que je dois à l'obligeance de M. Ed. de Freudenreich, chef du service bactériologique de la station agricole de la Rütti (Berne), tandis que l'autre était tout récemment arrivée des Indes ; elle m'a été remise un peu plus tard dans le courant de la même année, par M. le Dr E. Klein. Entre mes mains la première de ces cultures ne donna d'abord que des virgules ou spirilles normaux, mais quelques cultures sur gélatine, abandonnées pendant quelques temps et ensemencées à nouveau, produisirent les formes que je vais décrire. Les autres, celles du Dr Klein, donnaient alors tant les cellules rondes que les spirilles ou « virgules » normaux. Ces derniers ont été si fréquemment décrits et dessinés pendant les cinq dernières années que je n'ai pas autre chose à signaler à leur sujet que l'inflexion plus ou moins prononcée de la courbure des articles, d'ailleurs très variable, dépendant uniquement du plus ou moins de profondeur de l'hélice formée par le spirille.

Les formes que j'ai obtenues ont été examinées d'une manière continue en chambre humide sur la platine chauf-

faute du microscope. Cette méthode n'est pas seulement la plus sûre mais même la seule par laquelle on puisse constater le développement et la succession des formes en question. J'en ai, toutefois, aussi observé la croissance à des intervalles variables, dans des tubes de bouillon tenus à l'étuve, ensemencés en même temps et de la même manière que les gouttes en chambre humide et constaté qu'en général leurs phases de développement correspondaient. Je me propose de transcrire plus bas en détail quelques-unes de ces observations, ce qui rendra plus clairement certaines particularités du développement de ces formes que leur description en termes généraux.

La série des formes que j'ai observées, brièvement exposée, est la suivante :

Cellules globulaires rondes (Pl. IX, *fig.* 1) d'une grandeur variant de 6-7 μ ou plus. Au début elles sont généralement actives et possèdent certainement dans quelques cas des cils. Plusieurs de ces cellules sont isolées, mais elles forment aussi quelquefois des amas contenant quelquefois jusqu'à des centaines de cellules. Ces amas se meuvent parfois distinctement et les groupes plus petits peuvent même être très actifs. Le protoplasme des cellules est d'abord clair et homogène; après un temps variable les cellules entrent dans une période de repos, leur substance devient granuleuse, il peut se former de petites vacuoles, et les parois des cellules s'épaississent. Après un temps qui est de nouveau très variable et incertain, de quelques heures à quelques jours, elles se résolvent en de petites granulations qui sont un peu indistinctes, mais qui examinées dans des préparations colorées et avec des objectifs puissants accusent une forme circulaire. Elles consistent en sporules qui transférées dans une solution nutritive fraîche reproduisent les cellules rondes ou les formes décrites plus bas. Ceci est l'un des cycles de développement et constitue la plus fréquente des transformations que j'ai observé. Il peut continuer à apparaître sans variations perceptibles dans les cultures-filles successives, apparemment pour un temps indéfini, ou bien aussi il peut alterner avec des formes spirillaires ou filamenteuses, ou encore, ce qui arrive fréquemment, avec des cellules qui ont une

apparence plus ou moins distinctement amiboïde (*fig.* 2-7 et 9) ou mélangé avec ces dernières. Dans un troisième stade il peut également se produire des formes plus ou moins bacillaires (*fig.* 8 et 9), dont quelques-unes sont presque vermiformes.

J'ai plus d'une fois vu directement sur la platine chauffante les sporules décrites plus haut donner naissance à ces dernières formes, comme je les ai également vu éclater et reproduire des sporules.

Les différentes phases de transformation paraissent faire leur apparition d'une façon tout à fait arbitraire et, autant que j'ai pu en juger jusqu'ici, aucunes conditions extérieures ne les influencent ou n'en rendent compte. Une de leurs particularités les plus remarquables est la rapidité extraordinaire de leur développement, telle qu'on l'observe tant dans les tubes de culture que dans la chambre humide sur la platine chauffante. Lorsqu'un tube contenant 10 centimètres cubes de bouillon est inoculé au moyen d'une pipette capillaire avec une gouttelette (moins de 0,01 centimètre cube) d'une culture antérieure présentant cette phase de transformation, le développement de la culture trouble fréquemment le bouillon d'une manière distincte au bout de deux heures et parfois même au bout d'une heure et demie; en chambre humide on constate sous le microscope leur active multiplication au bout du même temps. Ceci implique une rapidité de prolifération telle que nous ne la connaissons pas encore parmi les schizophytes. Ces formes ne se développent pas d'habitude dans le bouillon à moins qu'il ne soit très concentré, c'est-à-dire d'un poids spécifique de 1,009 et plus (avec l'addition usuelle de peptone et de chlorure de sodium), au lieu de 1,004 qui est celui du bouillon que j'ai trouvé le mieux adapté à la généralité des microbes (formule du Dr Miquel), avec ou sans glycérine, substance qui, ainsi qu'on le sait, favorise le développement de certains organismes (Dr Roux). Il se produit aussi un autre changement léger, mais perceptible, dans les caractères physiologiques du microbe arrivé à cette phase, ainsi que dans les caractères de ses cultures. Bien qu'à 37-40° son développement soit très rapide, sa croissance à 20° ou au-dessous est alors très retardée et même rendue

incertaine tant dans les milieux liquides, que sur les *substrata* solides : la gélatine nutritive est liquéfiée très lentement; dans quelques cas la liquéfaction n'était pas encore complète après plus de trois mois, la température de la chambre ayant varié pendant ce temps entre 12° et 20°. Dans les tubes de bouillon également, la formation de la pellicule est, à cette phase de transformation, un peu différente de celle des « virgules » normales : elle ne se forme pas non plus d'une manière constante. Habituellement, après quelques heures de développement, une première pellicule se forme qui tombe au fond du tube et le liquide reste clair ou ne contient du moins que quelques parcelles floconneuses à sa surface; après quelques temps, c'est-à-dire au bout de quelques jours, il se forme une écume sur toute la surface qui, dans la suite, devient épaisse et tenace; lorsque le bouillon est tenu à l'étuve et s'évapore, elle se brise et adhère aux parois du tube; examinée au microscope elle paraît se composer uniquement de granulations ténues. Dans la gélatine il ne se forme généralement pas de pellicule.

La première question qui se pose au sujet de ces transformations est de savoir quelle démonstration on peut fournir de leur rapport génétique avec les virgules typiques et comment on peut prouver qu'elles ne sont pas dues à une contamination fortuite. Dès les premiers temps cette dernière objection a été de ma part l'objet d'une étude attentive en isolant les germes à plusieurs reprises au moyen d'une méthode modifiée des cultures sur plaques que je faisais à la surface de la gélatine ou de l'agar dans des tubes fermés; le résultat fut toujours le même, c'est-à-dire que j'obtins toujours dans les cultures-filles provenant de colonies isolées uniquement les formes décrites plus haut. Quant à la première question, je ne pus, pendant un certain temps, lui trouver de réponse concluante et j'hésitai à publier mes observations, d'autant plus que bien que les formes filamenteuses, spirilles et virgules, apparussent parmi les formes transformées, je ne parvenais pas à obtenir des cultures ou des préparations dans lesquelles les premières — les virgules — fussent seules présentes. Ce n'est que tout récemment que je réussis à le faire en étalant une

parcelle d'une culture de bouillon dans laquelle des cellules rondes et amiboïdes avaient été constatées et leur développement observé, sur la surface inclinée d'un tube de gélose que j'avais mis à l'étuve dans une grande chambre humide pour maintenir l'humidité et que j'avais retiré le 4e jour, après que des colonies séparées s'étaient développées, pour le tenir encore pendant quelque temps à la température de la chambre variant alors entre 18° et 21°. Je trouvais alors plus de 30 colonies, dont celles situées dans le fond du tube étaient confluentes. Examinées à la loupe toutes les colonies avaient la même apparence extérieure ; des portions de plusieurs d'entre elles furent examinées sous le microscope, dans de l'eau, et se trouvèrent toutes consister en vibrions ou spirilles et en segments en forme de virgule, sans mélange de cercles ou d'autres formes. D'une de ces colonies l'on fit des cultures dans des tubes de bouillon que l'on mit à l'étuve dans deux chambres humides placées sur la platine chauffante pour observer leur développement. Dans ces dernières il se développa des cellules rondes et quelques cellules amiboïdes avec les caractères décrits plus haut, et dans les tubes de bouillon leur développement fut aussi rendu évident par le trouble qui se produisit dans le liquide dans l'espace de 2 heures. Ceci met hors de doute la pureté des cultures et les rapports génétiques des cellules rondes et amiboïdes avec les spirilles.

Observation A. — Du bouillon dans un tube et dans une chambre humide (1) est inoculé à 1 heure de l'après-midi avec une culture pure sur gélatine vieille de 13 jours, pas encore entièrement liquéfiée et contenant les virgules et spirilles typiques avec des cellules rondes et des granulations. Mise à l'étuve à 38°.

A 3 heures de l'après-midi (2 heures après l'inoculation) le bouillon du tube est manifestement trouble et montre sous le microscope des cellules rondes isolées, pour la plupart très actives, quelques petits amas de cellules et des filaments doués d'un mouvement rotatoire lent. Le protoplasme des cellules est homogène et clair. Au même moment la culture en chambre humide examinée

(1) Les chambres humides que j'emploie sont connues sous le nom de cellules de Ranvier.

sur la platine chauffante du microscope montre des formes similaires, mais les cellules sont beaucoup moins nombreuses.

A 6 heures (5 heures après l'inoculation) les cellules rondes sont très nombreuses dans la chambre humide, avec des amas de 100 cellules et plus, les cellules isolées sont très actives. Diamètre de 5 à 6 μ; quelques-unes deviennent granuleuses, dans d'autres apparaissent des vacuoles et dans quelques-unes de courts filaments ou cils, par deux et trois ensemble (Pl. IX, *fig.* 1). Le tube de bouillon présente des formes très similaires.

Le lendemain à 8 heures du matin (19 heures), amas de kystes dans la culture en chambre humide, pour la plupart au repos; le protoplasme de plusieurs éclate et forme des sporules le long du bord de la chambre humide; près de la rainure quelques cellules isolées sont encore actives (aérobies). Dans le tube formes similaires, la désintégration est plus avancée.

Le jour suivant, à 9 heures du matin (44 heures), les kystes ont encore augmenté de nombre dans la chambre humide et recouvrent la plus grande partie de la surface de la chambre humide; quelques-uns ont la forme d'un flacon et sont amiboïdes, d'autres ont de courts appendices, rétractiles comme des bourgeons, d'autres enfin sont munis de prolongements filamenteux ou en forme de pseudopodes (Pl. IX, *fig.* 5). Dans le tube, les cellules sont presque entièrement désintégrées. Aucunes grandes cellules rondes ou amiboïdes ne sont visibles.

Après 58 heures. Dans la chambre humide quelques cellules isolées sont encore actives; quelques cellules en forme de flacon avec de courts prolongements; d'autres sont triangulaires avec des prolongements dans les angles (*fig.* 3 et 6). Voir aussi les figures de Balbiani citées plus loin. Une cellule piriforme, de 5 × 9 μ, se mouvant et tournoyant avec rapidité s'approcha d'une cellule ronde d'environ 5 μ et resta unie avec elle par un court filament d'environ 3 μ de longueur, distinctement perceptible. les deux cellules continuèrent à se mouvoir en rond ensemble aussi longtemps qu'elles furent observées.

Après 90 heures. Dans la culture en chambre humide toutes les cellules rondes sont au repos et en voie de désintégration; quelques rares formes filamenteuses sont encore visibles, mais elles sont petites et disparaissent.

Finalement après 6 jours, toutes les cellules rondes et les filaments s'étaient divisés en petites granulations ou sporules, toutes d'apparence semblable; les restes des parois des cellules rondes étaient visibles par places et la forme des filaments restait indiquée par l'arrangement linéaire des sporules. Des préparations microscopiques, séchées et colorées furent faites avec le contenu de la culture en chambre humide (*fig.* 9) ainsi que des cultures-filles dans du bouillon. Les premières montrèrent des amas de corpus-

cules ténus coccoïdes ou sporules, avec un peu de substance gélatineuse interstitielle. Je possède de cette préparation une photographie exécutée par M. Andrew Pringle qui montre distinctement la forme ronde des sporules ; leur diamètre ne dépasse pas 1,5 μ.

Dans les cultures en tubes de bouillon ce développement et cette désintégration se terminent plus rapidement que dans les cultures en chambre humide, mais le résultat est très semblable. Des cultures-filles furent aussi faites avec le bouillon du tube et on procéda également à l'isolement des germes sur de la gélose étalée en plaque ; de nombreuses colonies se développèrent et toutes celles qui furent examinées montrèrent des caractères similaires, c'est-à-dire des cellules rondes de différente grandeur avec de courts filaments ou vibrions.

Observation B. — 30 mars 1890, 8 heures du matin. On prépare une culture de bouillon en chambre humide sur la platine chauffante et on l'inocule de la culture en chambre humide, observée précédemment. On constate la présence d'un amas d'environ 30 corpuscules coccoïdes ou sporules ; trois de ceux-ci un peu détachés du reste peuvent être facilement observés.

A 9 heures du matin (après 1 heure). L'amas de corpuscules s'étend et les cellules constituantes deviennent plus distinctes, mais leur forme ne se modifie pas.

A Midi (après 4 heures). Les corpuscules s'allongent et augmentent de volume. Ils forment des chaines (formes en torule).

A 1 heure de l'après-midi (après 5 heures). Tous les corpuscules de l'amas forment maintenant une chaîne entrelacée. Ils restèrent dans cet état jusqu'à la nuit, sans changement appréciable, et reformèrent finalement des amas de petites sporules.

Observation C. — 3 avril 1890. 8 heures du matin. On fait une culture en chambre humide sur la platine chauffante avec une des cultures précédemment observée dans un tube de bouillon, contenant de petites cellules rondes et des sporules.

A 10 heures du matin (après 2 heures). Quelques cellules rondes et de petits amas se meuvent activement.

Midi. Les corpuscules se mettent en ordre linéaire, de la curieuse façon décrite dans l'observation précédente ; ensuite ils s'allongent et forment des corps en forme de bâtonnets dont quelques-uns ont 10 μ de longueur et plus, avec des prolongements ressemblant à des pseudopodes (*fig.* 6, 7 et 8). Les figures 8 et 9 représentent la forme la plus fréquente, se bifurquant à l'un des deux bouts ou aux deux ; elle est distinctement amiboïde. Plus tard des formes en étoile (*fig.* 7 et 9) firent leur apparition. Vers le soir ces corps cessèrent de se mouvoir et le lendemain matin ils avaient pour la plupart éclaté et fait place à leurs corpuscules constituants, qui par leur position indiquaient encore la forme des filamnets dont ils étaient issus. De nombreuses cellules rondes de 2-4 μ, beaucoup

plus grandes que les corpuscules ou sporules, étaient aussi visibles dans cette préparation, semblant être issues d'une contraction des bâtonnets amiboïdes, plusieurs d'entre elles conservèrent cette forme aussi longtemps qu'elles furent observées. Une culture en tube n'avait pas été faite simultanément, mais j'ai obtenu des formes identiques dans des cultures en tubes pratiquées et observées à d'autres époques, soit précédemment, soit plus tard ; j'en ai aussi fait des préparations microscopiques dont l'une est représentée par la figure 8.

Beaucoup d'autres observations furent encore faites tant sur des cultures en chambre humide examinées d'une façon continue sur la platine chauffante du microscope que sur des cultures en tubes examinées fréquemment ; elles confirmèrent et étendirent les résultats ici décrits, en permettant d'observer une grande variété de formes dérivées des petits corpuscules ou sporules parmi lesquel on put aussi remarquer, bien qu'ils n'aient pas été spécifiés en détail dans les observations qui précèdent, un nombre plus ou moins grand de filaments en spirilles et virgules ou vibrions.

Ceux-ci, dans quelques rares cas, paraissent se désagréger en sporules ténues comme celles des cellules rondes, dans d'autres cas, ils semblent dégénérer et se fondre. Dans quelques-unes de ces observations on constata l'extrême rapidité avec laquelle procède ce développement bien qu'elle soit très variable. Les différentes formes appelées : filaments, cellules rondes et corps amiboïdes semblent tous procéder indifféremment, et sans aucune régularité dans leur succession, des sporules. La dernière observation que je rapporte en détail couronne en quelque sorte toute la série, attendu qu'elle prouve la continuité génétique des diverses formes décrites avec les spirilles et virgules normaux ou originaux.

Observation D. — Un tube de bouillon et une goutelette en chambre humide sont inoculés à 6 heures du matin avec une colonie crûe sur la surface d'une des plaques de gélose d'isolement, mentionnées plus haut et composée de virgules et spirilles normaux.

A 8 heures du matin (après 2 heures). Le contenu du tube est distinctement et uniformément troublé ; sous le microscope, on constate qu'il contient de nombreuses cellules rondes se mouvant acti-

vement, tant isolées que réunies en petits amas, mélangées avec de courts filaments. A ce moment la culture en chambre humide montre principalement de petits amas de matières filamenteuses et granuleuses, dont quelques-unes se meuvent légèrement ; peu après, des cellules rondes commencèrent à s'en séparer et à 11 heures du matin, soit 5 heures après l'inoculation, quelques-unes avaient atteint une grosseur considérable, 5 μ et plus, quelques-unes s'étaient allongées ainsi que le montrent les figures 2 et 3 faites d'après cette culture, et avaient pris la forme de flacon ; elles étaient visiblement amiboïdes et quelques-unes douées d'un mouvement giratoire très actif (*fig.* 5).

A ce même moment (5 heures après l'inoculation) la culture en tube renfermait de nombreuses cellules rondes, également actives, et quelques amas avec des filaments, des cellules et des granulations en mouvement ; ceux-ci avaient déjà commencé à gagner le fond du tube et à y former un sédiment. Après 6 heures le contenu du tube était devenu clair, toute la culture étant tombée au fond du tube ; cela continua ainsi jusqu'au troisième jour, auquel moment une légère écume se forma à la surface du liquide qui se changea graduellement en une pellicule résistante, comme je l'ai décrite plus haut et composée de corpuscules ténus.

A 4 heures de l'après-midi (10 heures après l'inoculation) plusieurs des cellules rondes de la culture en chambre humide deviennent granuleuses et sont au repos ; finalement, au bout de quelques jours, elles éclatent et font place aux sporules déjà décrites.

La culture en tube servit à faire des plaques d'isolement sur gélose étalée en surface qui furent tenues à l'étuve à 38°. Après avoir crû pendant 5 jours, quelques-unes des colonies isolées et bien développées, sont examinées ; elles se trouvent uniquement composées de petites cellules rondes d'apparence particulière et de dimensions variables, qui ne sont identiques ni avec les sporules précédemment décrites, ni avec les grandes cellules claires, mais qui ressemblent plutôt aux formes originairement observées et décrites par le Dr Klein comme discoïdes et donnant naissance, en éclatant, à des virgules.

Telles sont les dernières observations que j'ai faites. Nous y voyons une culture pure — colonie isolée — de virgules typiques sur gélose donner naissance à toute une série de formes, cellules rondes, amiboïdes et autres, qui donnent de nouveau dans des cultures sur plaques des colonies de petites cellules rondes. Je ne crois pas qu'il soit possible de prouver la continuité génétique de ces formes étranges avec le bacille-virgule d'une manière plus concluante. J'ajouterai seulement que pour démontrer le

développement de ces transformations, il est nécessaire de recourir à l'observation continue sur la platine chauffante, ainsi que le recommande M. Maupas (*Arch. de zoologie expérimentale*, 1888). Les changements sont souvent si rapides, plus encore que je ne l'ai décrit plus haut, qu'ils échappent facilement quand on se borne à examiner d'une façon discontinue les cultures en tubes.

Quelle est maintenant la signification des formes et des transformations que je viens de décrire brièvement et imparfaitement? Depuis sa première apparition le microbe du choléra a presque universellement été considéré comme appartenant au genre spirille des schizophytes ou bactéries et on n'a prêté que peu d'attention à la démonstration qu'avait apportée le Dr Klein de son développement anormal. Pendant ces dernières 12 années et plus, cette classe de microbes a été l'objet d'études ininterrompues et sa place indépendante et autonome paraissait établie au-dessus de tout doute.

Feu le Dr Davaine avait cependant, dans une très remarquable communication faite, en 1866, à l'Académie des Sciences, établi le fait généralement admis aujourd'hui et connu sous le nom de pléomorphisme des schizophytes ; c'est ainsi qu'il avait montré que le *Bacterium termo*, inoculé sur différentes espèces de plantes grasses pouvait assumer des formes de leptothrix, de bacilles, de coccus et d'autres encore qui précédemment, dans la description d'Ehrenberg, étaient considérées comme caractéristique pour les différents genres, et que, par conséquent, une classification fondée sur ces caractères était arbitraire et fallacieuse.

En ceci (1), comme dans beaucoup d'autres questions, Davaine a devancé les méthodes et les conclusions auxquelles d'autres se sont arrêtés beaucoup plus tard. Ce pléomorphisme toutefois est considéré comme s'appliquant uniquement aux modifications des formes caractéristiques

(1) Nul doute qu'il n'ait été rendu justice à sa mémoire dans l'ouvrage récemment annoncé : l'Œuvre de Davaine. Je n'ai toutefois pas pu m'en assurer, l'édition de cet ouvrage ayant déjà été épuisée. Il est à espérer qu'une seconde édition est en voie de préparation.

des différents genres dans la même classe. Or, il est évident que dans le cycle des formes que j'ai décrites il s'agit d'une chose fort différente. Ou bien les virgules et spirilles du choléra asiatique n'appartiennent pas aux schizophytes, ou alors, si pourtant tel est le cas, le groupe ne possède pas d'autonomie propre.

Quelques auteurs plus anciens ont, en effet, avant les observations de MM. Pasteur et Koch, émis l'idée que les bactéries pourraient bien n'être que des formes du développement d'organismes plus élevés ou même seulement des organes de ces derniers. Bien que ces hypothèses aient pour la plupart été perdues de vue pendant ces dernières années, elles trouvent un certain appui dans un mémoire récent des plus intéressants dû à M. le professeur Bütschli, l'une des autorités les plus éminentes de nos jours et bien connu par son magnifique ouvrage sur les protozoaires, mémoire(1) dans lequel il arrive à la conclusion que le contenu des cellules de quelques schizophytes se compose principalement d'un nucléus ou substance nucléaire et d'une mince couche périphérique de cytoplasme, ce qui les ferait évidemment ressembler à cet égard à la structure des spermatozoaires, telle que Kölliker et d'autres l'ont établie depuis longtemps. Disons toutefois que le savant professeur d'Heidelberg n'a pas tiré la conclusion à laquelle je fais allusion de ses propres observations qui avaient été faites dans le but de résoudre la question de la présence ou de l'absence d'un nucléus dans quelques organismes, et qu'il paraît considérer cette classe comme indépendante, en faisant la remarque qu'ils sont très proches parents des *Schizophycètes*.

Feu le professeur de Bary, qui s'est beaucoup occupé des schizophytes pendant ses dernières années, considère, dans ses leçons sur les Bactéries (2), ces dernières comme une classe indépendante et regrette ce qu'il appelle l'extension extravagante prise par la doctrine du pléomorphisme dans les ouvrages de quelques auteurs.

---

(1) *Ueber den Bau der Bakterien*, Leipzig, 1890.
(2) *Vorlesungen über Bakterien*, Leipzig, 1886.

D'autre part M. le professeur J. van Sachs semble dans sa *Pflanzenphysiologie* pencher en faveur de l'opinion d'après laquelle les schizophytes ne seraient que des formes transitoires ou des phases de développement de champignons à mycélium, analogues à la phase torulaire du *Mucor racemosus*. Ainsi nous voyons que sur ce point les autorités sont divisées (1).

Il y a lieu de rappeler que le professeur Bütschli a étudié des espèces de schizophytes qui ne peuvent certainement pas être considérées comme types de cette classe ; c'étaient le *Chromatium Okenii*, *Ophidomonas senensis*, etc., qui avaient été choisies en raison de leurs dimensions anormales. Il est clair que dans une classe qui, telle qu'elle est actuellement constituée, embrasse des formes aussi peu similaires que, les coccacées, les spirilles et les streptothrix mentionnés ci-dessus, la plus grande prudence est de rigueur quand il s'agit d'appliquer à la classe entière des conclusions générales dérivées de l'observation d'une espèce particulière. Le principe de la classification des Thallophytes établi depuis longtemps par Sachs et généralement admis aujourd'hui est basé sur leurs procédés de reproduction. Parmi les schizophytes quelques espèces qui ont été considérées comme très parentes et désignées par quelques auteurs indifféremment sous le même nom, j'entends par là les bactéries sans spores et les bacilles sporifères, doivent, si l'on part de ce principe de classification, paraître largement séparées. Je pense que nous pouvons conclure relativement aux formes dans cette classe de schizophytes que la vérité se trouve entre les deux vues extrêmes mentionnées plus haut et que, tandis que parmi les

---

(1) L'opinion du professeur C. von Nägeli sur la mutabilité des formes et sur la constance des espèces parmi ces organismes est bien connue et il y a peu de savants dont l'opinion ait droit à plus de respect, bien que ses vues n'aient guère attiré l'attention pendant ces dernières années. On sait qu'il émet l'opinion (*Die niederen Pilze*. München, 1877, p. 15-18) que les Schizophytes ou Spaltpilze, soit Schizomycètes, comme il les appelle, forment un groupe indépendant et n'ont point de relations génétique, à une époque récente, avec les levûres (Sprosopilze) ou les moisissures (Schimmelpilze), mais que leurs espèces ainsi que leurs formes et leurs fonctions sont très instables. M. von Nägeli se joint ainsi, à cet égard, à la doctrine établie par Davaine qu'il dépasse toutefois de beaucoup, bien que ses vues sur ce point aient été quelque peu mal interprétées.

formes sporifères quelques-unes représentent des espèces indépendantes et autonomes, d'autre part, quelques-unes parmi les espèces privées de spores, y compris en particulier les spirilles, encore si peu connus, peuvent simplement être des phases transitoires ou de développement d'organismes plus élevés ou seulement même de simples organes soit des produits cellulaires de ces derniers, doués d'une existence temporaire indépendante et d'un pouvoir transitoire de multiplication par scission, ainsi qu'on le voit dans quelques autres cas déjà connus. J'ai moi-même observé des faits — dans cette classe d'organismes — qui semblent parler en faveur de cette vue et que je me propose de décrire plus tard.

Quand j'observai pour la première fois les transformations décrites ici, je pensai d'abord qu'elles ressemblaient à certaines transformations que l'on voit parmi les classes supérieures des Thallophytes, telles que les Algues ou les Mycétozoaires, mais un examen plus attentif m'a convaincu qu'elles ne sont analogues à aucun des processus connus pour ces groupes ; l'étude des caractères des Protozoaires rend au contraire vraisemblable qu'elles rentrent dans ce cadre et qu'elles correspondent probablement à la division des Sporozoaires (1). Parmi les formes de ces derniers décrites et dessinées par M. Balbiani (2) il y en a deux qui correspondent exactement à quelques-unes de celles que j'ai observées; ses figures 1, 2 et 3, Pl. II, en particulier, ainsi que quelques autres, correspondent si exactement à mes figures 6 et 9, qu'elles pourraient avoir été dessinées d'après le même organisme, et j'en conclus que le soi-disant microbe du choléra appartient très probablement à ce groupe, et il est à espérer que les mycologistes

---

(1) Les protozoaires et plus particulièrement la division des sporozoaires ont récemment été l'objet d'une attention suivie et toujours croissante, comme parasites et agents pathogènes. Leur présence dans la *malaria* est bien connue et on les découvre encore dans bien d'autres cas. Nous mentionnerons ici parmi les ouvrages les plus importants publiés récemment sur ce sujet *Die Protozoen als Krankheiserreger* du Dr L. Pfeiffer, Iéna, 1890. Le tome présent de ces *Annales* (1890) contient également deux mémoires de deux auteurs différents sur le même sujet.

(2) *Leçons sur Sporozoaires*, Paris, 1884.

compétents accorderont leur attention à sa morphologie (1). Quant à ses propriétés pathogènes possibles, il est évident que les caractères spéciaux de sa forme et de sa croissance tels qu'on les trouve dans les cultures obtenues de l'intestin des cholériques ne peuvent être regardés comme constants ou spécifiques, et qu'ils ne sont évidemment que le résultat des conditions dans lesquelles le microbe se trouve ; ceci, toutefois, ne touche pas à sa valeur diagnostique, qui paraît assez bien établie et généralement admise. D'autre part, cependant, il est évidemment possible que dans des cas de choléra ou dans d'autres cas et dans d'autres conditions, il puisse revêtir quelques-unes des formes que j'ai décrites, ce qui rendrait très difficile, si ce n'est même impossible, de le reconnaître dans le contenu de l'intestin ; ceci expliquerait peut-être le fait que dans quelques cas de choléra, ainsi qu'on l'a affirmé, aucunes *virgules* n'ont pu être trouvées. Lorsqu'il s'agit d'un fléau aussi terrible que cette maladie toutes les observations qui tendent dans quelque mesure que ce soit à élucider son étiologie doivent être les bienvenues, et considérées comme pouvant contribuer à établir la base d'un traitement suivi de succès. Même en mettant de côté toutes propriétés pathogènes du microbe, ses transformations sont d'un intérêt manifeste pour la science mycologique et il vaudrait la peine de rechercher les causes qui déterminent l'apparition de ces formes étranges ; en le faisant, il ne serait pas impossible que l'on en rencontrât d'autres encore plus étranges et plus intéressantes. Je dois ajouter que, quelque doive être plus tard la classification de ce microbe, les transformations que j'ai décrites confirment de la manière la plus claire

(1) On se rappelle que le Dr Ferran a décrit en 1884 dans divers journaux des conditions particulières au microbe du choléra dans lesquelles celui-ci formait des conidies. Les faits avancés par lui ne trouvèrent alors guère de créance, mais ils furent pleinement confirmés par le Dr van Ermengem, dans son ouvrage *Sur le microbe du choléra*, Bruxelles, 1885, dans lequel il décrit et représente par le dessin les formes qu'il a obtenues par les méthodes de culture du Dr Ferran. J'ai répété ces expériences d'après les méthodes indiquées, mais je n'ai pas réussi à obtenir les mêmes résultats, bien que je n'entende pas par là mettre en doute l'exactitude des résultats du Dr van Ermengem ; je crois, au contraire, qu'il est probable que les formes qu'il décrit, ne sont qu'une autre phase des transformations d'un organisme excessivement anormal et de nature à causer bien des perplexités à la science mycologique.

l'opinion mentionnée plus haut de M. von Nägeli, et exprimée par ce savant distingué il y a treize ans sur le choléra (p. 94 du livre cité), savoir qu'une forme de schizophytes ne se conserve sans modifications qu'aussi longtemps que les conditions extérieures restent les mêmes; celles-ci viennent-elles à varier leurs formes se modifient aussi plus ou moins (1).

(1) A d'autres égards aussi les opinions exprimées il y a plusieurs années par ce savant au sujet du même organisme, bien qu'elles aient été négligées en ces derniers temps, se trouvent maintenant acquérir manifestement tous les jours plus de fondement; ainsi son idée que les schizophytes pathogènes (*Contagionpilze*, p. 92 du livre cité) dériveraient et ne seraient que des variétés des saprophytes, auxquels ils feraient retour dans des conditions extérieures normales, a été démontrée à la lettre et dans le plus typique de tous les cas, celui de la bactéridie charbonneuse par les récentes et brillantes expériences de M. Chauveau (*Comptes-rendus de l'Académie des sciences*, 1889), qui, non seulement a constaté l'existence des formes saprophytes et pathogènes, mais qui a aussi montré les méthodes au moyen desquelles on peut expérimentalement opérer la transformation d'une espèce dans l'autre. Je ne puis omettre non plus de rappeler ici la doctrine de von Nägeli sur l'origine *diblastique* ou double, des maladies tant infectieuses que miasmatiques, d'après laquelle le microorganisme ne serait que l'un et le moins important des deux facteurs nécessaire pour faire éclore la maladie, le premier et principal facteur étant la prédisposition et la susceptibilité constitutionnelle temporaire. Je crois que si ce principe avait été moins perdu de vue qu'il ne l'a été, il n'aurait pas été sans utilité pour la thérapeutique pratique et qu'il aurait contribué à élucider bien des points encore obscurs dans ces questions. A un moment où le choléra asiatique fait de nouveaux ravages dans des contrées voisines et réclame ses hécatombes de victimes, la pensée de ce qui reste encore à trouver s'impose forcément à notre esprit.

EXPLICATION DES FIGURES

PLANCHE IX

Fig. 1. — Cellules rondes, actives et au repos. Forme fréquente, dessinée d'après une culture en chambre humide de 20 heures.

Fig. 2. — Cellules issues de sporules, légèrement amiboïdes et prenant une forme allongée. Observation D, voir le texte, page 537.

Fig. 3 et 4. — Grandes cellules actives et amiboïdes.

Fig. 5. — Formes actives amiboïdes s'étant rapidement développées des sporules.

Fig. 6. — Formes amiboïdes montrant la tendance à former des prolongements bilatéraux ressemblant à des pseudopodes.

Fig. 7. — Cellules amiboïdes avec longs prolongements.

Fig. 8. — Formes bacillaires ou vermiculaires, assez fréquentes et persistantes.

Fig. 9. — Préparation microscopique colorée montrant des formes de caractères différents. — *a* s'est évidemment divisée en segments en faisant sécher la préparation : pour *h* même remarque.

Les figures 1-8 ont été dessinées d'après des cultures vivantes en chambre humide à l'aide du micromètre oculaire.

LA STÉRILISATION A L'EAU SALÉE ET SON EMPLOI EN CHIRURGIE

Note de laboratoire de la clinique chirurgicale de Berne

Par le Dr E. TAVEL

Depuis un an environ l'eau stérilisée ordinaire a été remplacée par l'eau salée soit dans le service de chirurgie de l'Université, soit dans la clinique particulière du professeur Kocher.

La solution employée au commencement était de 1 p. 100 ; elle a ensuite été remplacée par la solution physiologique de 7 p. 1000.

L'eau salée était portée à l'ébullition pendant une heure.

Les raisons qui nous ont amené à employer l'eau salée étaient d'abord toutes théoriques :

On sait en effet que les solutions salées concentrées ont un pouvoir désinfectant positif, il était donc naturel de conclure *a priori* qu'une solution salée faible devait avoir la même qualité à un degré moindre, il est vrai.

De plus l'adjonction de sel à l'eau élève son point d'ébullition et ce facteur semblait devoir avoir une certaine importance pour la stérilisation de ces solutions par l'ébullition.

Une autre raison qui a contribué à faire adopter l'eau salée est que cette dernière dissout plus facilement le sublimé que l'eau ordinaire.

Après la désinfection de la peau ou d'une plaie par le sublimé il était donc indiqué pour enlever les restes de ce sel si toxique de prendre un liquide le dissolvant facilement. Ceci pour le plus grand avantage du malade et du chirurgien.

Tandis que l'eau irrite les tissus et nuit à leurs propriétés physiologiques si importantes pour la lutte contre les infiniment petits, nous savons par les travaux de Buchner tout

spécialement que l'eau salée en diluant les sucs de l'organisme ne leur enlève pas leurs propriétés bactéricides et ne nuit en aucune façon à la faculté de résorption de certains organes tels que le péritoine.

Un dernier avantage de l'emploi systématique de l'eau salée dans les services de chirurgie est que lorsqu'il s'agit de faire une injection intra-veineuse ou sous-cutanée on trouve la solution toute prête et stérile.

La question méritait donc d'être étudiée cliniquement par un usage journalier et prolongé. Des expériences de laboratoire devaient fixer la durée de l'ébullition nécessaire à une stérilisation complète.

Au point de vue de la guérison des plaies par première intention, la statistique n'a pas changé ; avant l'introduction de l'eau salée déjà la première intention était la règle avec fort peu d'exceptions.

Mais, tandis qu'autrefois on observait souvent, à la suite d'une désinfection un peu énergique un assez fort gonflement de la région opérée avec une forte élévation de température, maintenant cet inconvénient a pour ainsi dire disparu et la guérison se fait sans la moindre réaction objective et sans les douleurs et la sensibilité qui accompagnaient le gonflement dû au sublimé.

C'est surtout dans le domaine de la chirurgie abdominale que l'introduction de l'eau salée a marqué un grand progrès.

Les douleurs qui suivaient souvent les opérations telles que l'ovariotomie, l'hystérectomie, la résection de l'estomac ou des intestins, la cholécystectomie, etc., ont pour ainsi dire disparu depuis que l'ancienne *toilette du péritoine* a été remplacée par les irrigations d'eau salée tiède.

Dans un cas même, où après une hystérotomie difficile le pouls était très faible à la fin de l'opération et où une injection intra-veineuse semblait devoir être nécessaire, on se contenta, avant de fermer définitivement le ventre, d'y verser un demi-litre de la solution physiologique. La résorption se fit en peu d'heures, le pouls se releva rapidement et cette infusion intra-péritonéale ne causa aucune douleur.

Pour l'opérateur aussi l'eau salée est un avantage fort apprécié.

Après la désinfection mécanique et chimique au sublimé, les bras et les mains sont lavés dans l'eau salée chaude ; dès lors la coloration brune des ongles qui accompagne l'emploi constant du sublimé a presque disparu, l'épiderme ne souffre en aucune façon de ces désinfections réitérées et les symptômes généraux que nous avions tous souvent à un degré très désagréable ont disparu.

Restait à fixer la durée de l'ébullition nécessaire à une stérilisation complète.

J'ai choisi un bacille très résistant, trouvé par de Freudenreich , il liquéfie rapidement la gélatine, est très mobile et fortement sporogène ; dans les cultures sur gélatine, ou dans le bouillon il se forme au fond de l'éprouvette un dépôt composé presque uniquement de spores.

Après avoir décanté le bouillon clair, j'ai versé le dépôt dans des ballons d'Erlenmeyer renfermant l'eau salée et l'eau ordinaire.

Les ballons placés sur un bain de sable sont chauffés, dans chaque ballon un thermomètre contrôle la température.

Dans une première expérience, des inoculations furent faites lorsque la température avait atteint 80° et 98°, puis après ébullition pendant 5 minutes et 20 minutes.

Dans une deuxième expérience, les inoculations furent faites après 1 minute, 10 minutes, une 1/2 heure, 1 heure et 2 heures. Partout dans les tubes inoculés avec l'eau ordinaire, il se développa des colonies, tandis que pour l'eau salée, déjà après 1 minute, le nombre des colonies avait diminué et tous les autres tubes restaient stériles.

Il fallait en outre déterminer si dans l'ébullition c'était l'élévation de degré de la température ou l'adjonction du sel à l'eau qui lui donnait sa supériorité.

Ici, à Berne, l'eau ordinaire bout normalement à 98° environ, tandis que la solution physiologique d'eau salée bout entre 100 et 101°.

Dans mes ballons d'Erlenmeyer ne renfermant que 30 centimètres cubes de liquide environ, le rapport était autre.

La température du ballon d'eau salée restait constamment entre 100° et 101°, la température d'ébullition pour l'eau ordinaire variait au contraire entre 100° et 102°.

Il se produisait donc là un phénomène de surchauffage

qui permettait de conclure d'emblée que la température ne jouait dans la stérilisation à l'eau salée qu'un rôle absolument secondaire et que l'effet rapide était dû à la présence du sel dans l'eau.

D'après mes expériences qui ne sont pas nombreuses et qui devraient être répétées avec différents organismes résistants, il suffirait donc d'une ébullition de 10-15 minutes pour tuer les germes les plus résistants.

On stérilisera en peu de minutes les objets de pansement, les tampons de gaze remplaçant les éponges, les compresses de gaze, les linges destinés à recouvrir le malade et isoler le champ opératoire, etc.

Les instruments malheureusement ne supportent pas ce traitement.

Dans la pratique hospitalière où l'on a à sa disposition la vapeur d'eau sous pression, les étuves à air chaud et le sublimé, l'eau salée, si commode pour les irrigations et les lavages, peu paraître superflue pour la stérilisation. Dans la pratique à domicile et à la campagne l'eau salée deviendra un auxiliaire précieux du chirurgien par la simplicité de son emploi et parce qu'on l'a partout sous la main.

REVUES ET ANALYSES[1]

Dr Th. Escherich. — **Contribution à l'étiologie de la diphthérie.** *(Centralbl. für Bakteriologie u. Parasitenkunde*, VII, p. 8).

L'auteur paraît n'avoir aucune connaissance des travaux publiés en France sur le bacille diphtéritique. Or, c'est là une lacune considérable dans un travail, attendu que précisément le travail peut-être le plus important, paru depuis les recherches de Loeffler sur ce microorganisme, est dû à MM. Roux et Yersin, dont chacun connaît les belles recherches. Aussi le mémoire de M. Escherich contient-il, en partie, des faits déjà connus. Néanmoins quelques résultats nouveaux dans ces recherches méritent d'être relatés ici. M. Escherich résume dans son mémoire les résultats des recherches qu'il a faites sur la présence du bacille de Klebs-Loeffler dans les membranes diphthéritiques, examinées pendant la vie. Pour cela, il plongeait un fil de platine dans la membrane, après l'avoir nettoyée par des gargarismes ou des lavages avec la seringue, et procédait à des ensemencements par stries sur des tubes de sérum. La même aiguille de platine servait, sans être plongée à nouveau dans la membrane, à inoculer 3 tubes. Généralement l'auteur ensemençait 2 séries de 3 tubes. Sur 22 cas il réussit ainsi à isoler le bacille de Loeffler 20 fois. Dans les 2 cas, toutefois, ayant donné un résultat négatif, il n'avait été fait qu'un ensemencement. L'un d'eux était, en outre, un cas de diphtérie chronique et, dans le second, le malade, un enfant d'un an, avait, par sa résistance rendu le succès de l'opération plus que douteux. Après sa mort survenue peu après, on trouva les bacilles dans les membranes tapissant le larynx.

Dans tous les cas la virulence des bacilles fut constatée par des inoculations pratiquées sur des cobayes. A cet égard, M. Escherich ajoute que les jeunes chiens sont très sensibles à l action du bacille

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

diphtéritique. Une inoculation sous-cutanée les fait périr en 2 à 3 jours avec production d'énormes œdèmes hémorrhagiques. L'inoculation dans la trachée produit chez eux comme chez les lapins, des fausses membranes. Toute la série des ensemencements et inoculations aux animaux peut être terminée en 3 jours, ce qui donne une valeur pratique à ce moyen de diagnostic. Dans les angines simples, avec fièvre, M. Escherich n'a jamais rencontré le bacille diphtéritique. Il est encore à noter que l'auteur a fréquemment trouvé les bacilles diphtéritiques encore après la disparition des membranes pendant 1 à 3 jours. De même, dans des cas d'infections diphtéritiques bien constatés, l'auteur a trouvé sur les muqueuses atteintes d'inflammation catarrhale des bacilles de Loeffler parfaitement virulents, sans qu'il se formât de véritables membranes. Il considère ces cas, comme des formes légères abortives, dans lesquels, à la suite peut-être d'un manque de disposition, il ne se produit pas d'exsudat fibrineux. La présence du bacille sur une muqueuse atteinte de simple catarrhe, n'autoriserait donc pas à nier la valeur étiologique de ce microorganisme, tout au plus pourrait-on en conclure qu'il existe ainsi une *diphteria sine diphtera* comme une *scarlatina sine exanthemate*.

E. F.

Dr Heinr-Claessen. — **Sur un bacille de l'eau poduisant une matière bleue d'indigo** (*Centralbl. für Bacteriologie und Parasitenkunde*, VII, p. 13).

L'auteur décrit un bacille qu'il a trouvé dans l'eau de la Sprée, et qui est remarquable par la production d'une matière colorante bleue. Observé dans une goutte de bouillon, il se présente sous la forme d'un mince bâtonnet, à bouts arrondis, dont les dimensions sont à peu près celles du bacille typhique. Ce bacille est très mobile et se montre généralement en articles isolés. Parfois cependant deux ou trois articles sont réunis et, dans des cultures fraîches, on remarque des paquets de bacilles agglomérés. Il est entouré d'une masse de protoplasme qui ne se colore qu'après avoir été soumise à l'action d'un mordant (encre de noix de galle).

Sur les plaques de gélatine, les colonies n'apparaissent que le troisième jour. A la surface elles sont assez proéminentes, ce qui donne aux plaques l'apparence d'être parsemées de grains de sable. La production de la matière colorante ne commence que le quatrième jour. Dans les colonies de l'intérieur celle-ci se montre sur les bords, dans celles de la surface au contraire, au centre, tandis que les bords restent clairs et transparents, avec des contours irréguliers. Plus tard, le centre des colonies situées à l'intérieur de la

gélatine se colore aussi un peu. La gélatine n'est pas liquéfiée. Dans les cultures par piqûre, cette dernière est entourée, déjà au bout de 24 heures, d'une masse bleue d'indigo qui s'élève dans les 3 à 4 jours suivants comme un mur et s'étend ensuite lentement sur la surface de la gélatine en formant des contours irréguliers. Dans la profondeur de la piqûre rien ne croît. La matière colorante ne pénètre pas non plus dans la gélatine. Le bouillon ensemencé avec ce bacille se trouble en 24 heures à la température de la chambre mais il ne s'y produit pas de coloration. A 37° degrés le bouillon se trouble à peine ; une température élevée semble donc défavorable à la vie du bacille.

Sur gélose il se forme, toujours à la température de la chambre, une couche épaisse bleu-indigo. Il croît également sur les pommes de terre, mais ne produit de couleur bleue que quand elles ont une réaction acide. Quand la pomme de terre a été plongée dans un bain alcalin, le bacille forme un mince gazon vert sale. Ce micro-organisme croît même dans de l'eau distillée stérilisée ; au bout de 48 heures on voit un sédiment bleu foncé au fond du ballon.

La matière colorante est insoluble dans l'eau chaude ou froide, dans l'alcool et dans le chloroforme. Elle est faiblement soluble dans la solution de soude caustique. Elle est aussi soluble dans l'acide sulfurique concentré chaud et lui donne une couleur jaune brun. Dans l'acide chlorhydrique froid elle se dissout également en donnant une teinte bleue. L'adjonction d'un peu d'ammoniaque décolore la solution, qui ne reprend plus qu'une faible coloration bleue quand on ajoute de nouveau une goutte d'acide. A l'air, la couleur bleue de la solution devient en 5 minutes jaune-brun. Elle se dissout encore dans l'acide nitrique en donnant une teinte jaune ressemblant à celle du vin du Rhin. E. F.

L. Friedheim. — **Du traitement de la blénnorrhagie aigüe par les injections** (*Archiv für Dennatologie ul Syphilis*, 1889, 4).

Ainsi que l'indique le titre du mémoire que nous citons, son contenu est surtout de nature médicale et demanderait plutôt à être analysé dans un journal de médecine. La nature microbienne de cette affection fait toutefois rentrer le travail de M. Friedheim également dans le cadre de ces *Annales*, d'autant plus qu'il constitue, à proprement parler, une expérience sur l'action de diverses substances chimiques sur le gonocoque vivant dans la muqueuse uréthrale.

Le salicylate de mercure, employé dans 29 cas, a donné de bons résultats dans 22 cas ; dans 7 autres il ne montra aucune action, même après 15 jours.

Le calomel (en suspension de 10 p. 100) fait disparaître les gonocoques assez rapidement des sécrétions, mais dès que l'on cesse son emploi, ils reviennent.

L'hydraygre formamidat. Ne montre d'action sur les gonocoques qu'employé en solutions faibles (1-10 000), attendu qu'en solution plus concentrée (1 p. 1 000) il est trop irritant.

Le sublimé tue les gonocoques à la surface, mais ils apparaissent de nouveau en grande quantité dès qu'on cesse le traitement, déjà au bout de 12 à 24 heures. Les préparations de zinc, de plomb, et de tannin n'ont aucune action sur les gonocoques. Il en est de même du salicylate de bismuth.

Le permanganate de potasse n'agit d'une façon durable qu'à des doses provoquant une trop forte irritation de la muqueuse.

L'acide pyrogallique et l'acide nitrique (1/2 à 1 p. 1 000), se montrèrent sans action sur les gonocoques, de même que l'huile d'iodoforme, l'eau chloroformée, le thé de camomille additionné de 1 p. 100 de créosote, et l'acide borique. Celui-ci toutefois diminue l'inflammation.

La résorcine donna de bons effets 3 fois et le salicylate de soude 5 fois.

L'acide chromique tue les gonocoques sûrement, mais ne peut s'employer avec suite à cause de ses qualités trop irritantes.

Dans 318 cas traités par le nitrate d'argent, on put constater 237 fois une action bactéricide.

Tous les remèdes internes, en revanche, sont sans effet sur le nombre des gonocoques, sauf le baume de copahu, dont l'emploi les fit diminuer dans 14 cas sur 40 d'une façon notable.

De ses expériences l'auteur conclut que seul le nitrate d'argent (0,1 : 200 — 0,1 : 300) répond à toutes les exigences.

E. F.

E. di Mattei et A. Scala. — **Sur l'action désinfectante de quelques sels de mercure** (*Annali dell Istitute d'igiene sperimentale*, I, 1, p. 211).

Frappés des résultats souvent discordants et contradictoires auxquels sont arrivés nombre d'auteurs dans leurs expériences sur l'action désinfectante des sels de mercure, M. di Mattei et Scala on entrepris de soumettre cette question à une nouvelle étude. Ils ont commencé par rechercher la valeur comparative des diverses solutions préconisées de sublimé (adjonction de chlorure de sodium, d'acide chlorydrique, etc.) et de biiodure de mercure. Ils arrivent, dans ce travail, aux conclusions suivantes :

Les solutions de sublimé dans l'eau commune, préparées fraîche-

ment et celles auxquelles on a ajouté du chlorure de sodium (5 p. 1000) ont un pouvoir antiseptique à peu près égal.

Les solutions de sublimé dans l'eau distillée, ont, quel que soit leur âge, un pouvoir antiseptique plus considérable que les deux précédentes.

Les solutions de sublimé préparées avec de l'acide chlorhydrique (plus de 4-5 cmc. d'acide par litre de solution de sublimé) ou avec de l'acide tartrique (5 p. 1000) ont un pouvoir antiseptique à peu près égal ou supérieur à celui des précédentes solutions.

Les solutions de biiodure de mercure ont un pouvoir antiseptique inférieur à celui de toutes les solutions de sublimé.

Par contre, les solutions de sublimé préparées avec de l'eau commune et vieille de quelques jours, perdent considérablement de leur pouvoir antiseptique. Ainsi, une solution fraîche de 1 p. 1000 tue les spores du charbon en 6 heures, tandis qu'une solution vieille de 10 jours ne les tue qu'en 12 heures.

Il serait trop long d'énumérer ici les nombreuses expériences faites par les auteurs sur la bactéridie charbonneuse avec et sans spores, le *Staphyl. pyog. aureus* et le bacille typhique. Le lecteur voudra bien pour cela parcourir les nombreux tableaux qui accompagnent le travail de M. di Mattei et Scala. Ajoutons seulement qu'ils se servaient pour mesurer l'action désinfectante, de fils de soie imprégnés de cultures pures, qui après un séjour plus ou moins long dans les solutions étaient inoculés sur gélatine après avoir été lavés à l'alcool et à l'eau distillée stérilisée. En même temps, il était procédé à des essais de culture sur des terrains nutritifs mercurialisés à différents degrés.

Les auteurs ont aussi cherché à savoir si la désinfection atteint simultanément le pouvoir des germes de se développer et leur pouvoir pathogène. Il semble résulter de leurs expériences, pas très nombreuses, il est vrai, sur ce point, que les fils chargés de spores charbonneuses et les détritus d'organes charbonneux soumis à l'action de solutions faibles de sublimé, se montrent virulents tant qu'ils ont encore le pouvoir de donner des cultures. Quelquefois, il est vrai, ils notèrent un retard dans la mort des animaux d'expérience, ce qui s'expliquerait peut-être par un commencement d'atténuation de la virulence.

On sait qu'en présence de matières albuminoïdes le sublimé perd une partie de ses propriétés microbicides en raison des précipités qui se forment, inconvénient que l'on évite par l'emploi des solutions acides. Pour déterminer l'affaiblissement du pouvoir désinfectant du sublimé en contact avec des matières albuminoïdes, les auteurs ajoutèrent en proportions variables du sublimé à de l'albumine d'œuf, la stérilisèrent par le chauffage discontinu à 60-70° et plongèrent comme précédemment, des fils de soie imprégnés de culture qu'ils ensemencèrent ensuite dans des terrains nutritifs. Les

résultats montrent que les solutions de sublimé perdent dans ce cas, une grande partie de leur pouvoir désinfectant. Les spores charbonneuses se montrèrent capables de développement encore après 36 heures de séjour dans l'albumine au sublimé à 1 p. 50,000 et 1 p. 1000, tandis qu'elles sont tuées par le sublimé dans l'eau distillée à 1 p. 10,000 en 18 heures et en 12 heures dans la solution acide. Les bactéridies sans spores résistèrent 24 heures dans l'albumine à 1 p. 10,000 tandis qu'elles sont tuées en 12 heures dans la solution acide de sublimé à 1 p. 50,000. Avec les autres microorganismes les résultats furent analogues. Ce facteur ne devra donc pas être négligé quand on voudra désinfecter des matières albuminoïdes au moyen du sublimé.

Dans une seconde série d'expériences les auteurs étudièrent encore l'action de quelques autres sels de mercure: iodure mercureux, calomel, sulfure rouge de mercure et sulfure noir de mercure. Le tableau résumant ces expériences montre que ces sels sont doués d'un pouvoir énergique quand ils sont employés en poudre (les auteurs les triturairent dans un peu d'eau stérilisée). Par contre, leur peu de solubilité ne donne que très peu de pouvoir désinfectant à l'eau qui en est saturée. Pour la même raison ils n'empêchent que dans une faible mesure la croissance des germes pathogènes quand on les ajoute aux milieux nutritifs. Les plus actifs sont encore le iodure mercureux et le calomel.

Ils concluent que le sublimé doit être préféré à toutes les autres préparations mercurielles dans la pratique de la désinfection.

E. F.

L. Schmelck. — **Examen bactériologique de l'eau potable de Christiania** (*Centralbl. für Bakteriologie u. Parasitenk.*, VIII. p. 102).

L'auteur résume dans ce mémoire les résultats de ses recherches bactériologiques sur l'eau de Christiania. Un fait surtout est intéressant : tandis que cette eau est d'habitude assez pure, sa teneur en bactéries augmente subitement lors de la fonte des neiges pendant laquelle elle peut atteindre un maximum de 5 000 germes par centimètre cube. Ce n'est pas que la neige soit riche en germes, c'est le contraire qui a lieu, car M. Schmelck n'y a trouvé que fort peu de bactéries. Selon lui l'augmentation des bactéries dans l'eau à cette époque, tiendrait à ce que la neige agirait mécaniquement en entraînant dans le sol les bactéries de la surface. Cette action mécanique serait encore aidée par l'état physique du sol gelé. Il rappelle à cet égard que d'après M. Miquel l'augmentation des bactéries dans l'eau à la suite de la pluie se produit surtout en

hiver. Il a isolé de cette eau une trentaine d'espèces bactériennes dont les unes sont presque constamment présentes, tandis que les autres n'apparaissent que dans de certaines saisons ou à de rares occasions. E. F.

R. Demme. — **Sur la présence d'une levure rouge dans le lait et dans le fromage et sur la production de catarrhes intestinaux chez des enfants en bas âge ayant bu, crû ou mal cuit, du lait infecté par ce microorganisme.** (Tiré de l'ouvrage publié à l'occasion du 70e anniversaire de E. Henoch).

L'auteur a isolé d'un fromage présentant en divers points, à sa surface et dans sa profondeur, une coloration rouge marquée, une levure particulière produisant un pigment rouge et à laquelle il a donné le nom de *Saccharomyces ruber*. Sur les plaques de gélatine elle donne après 48-52 heures de petits points jaunâtres en forme de gouttelettes. Entre le 6e et le 10e jour les colonies acquièrent la grandeur d'une lentille, prennent tout à fait l'aspect d'une tête de clou et commencent à se colorer dans leur partie centrale en rouge framboise clair. Entre le 14e et le 20e jour la coloration devient générale et acquiert toute son intensité au bout de 6-8 semaines. Dans les cultures par piqûre l'apparition du pigment se fait de la même manière. Quand on les conserve assez longtemps on voit, après 8-10 mois, la gélatine commencer à se liquéfier ; les parties colorées tombent alors au fond de la gélatine fluidifiée et y forment un sédiment rouge. Le *Saccharomyces ruber* croît aussi bien sur gélose additionnée de 8-10 p. 100 de sucre et surtout sur la gélose glycérinée. Mais il croît encore mieux sur les tranches de pommes de terre ; 8 à 10 jours après l'inoculation leur surface entière est recouverte d'un épais gazon rouge de 2-4 millimètres de hauteur. Le fromage frais et le lait lui conviennent aussi très bien. La température optimum est de 18-22°. Les cellules ont en général un diamètre de 4,5 μ ; les plus petites n'ont que 3,8 μ ; les plus grandes 6,8 μ, même plus. Cette levure est dénuée de la propriété de faire fermenter le sucre. Sa ténacité est remarquable ; elle supporte, en effet, aisément une cuisson de 5 minutes. Pour la tuer il faut la cuire pendant 8-10 minutes. Le sublimé ne détruit sa faculté de reproduction que dans une concentration de 1 : 10,000, le phénol à 15 : 10 000 seulement. Des recherches que l'auteur put faire alors, il résulte que la source de l'infection du fromage était le lait qui contenait déjà ce microorganisme.

L'année suivante M. Demme retrouva la même levure dans un lait dont l'ingestion, tant crû que soumis à une seule ébullition, avait déterminé un dérangement gastrique chez des enfants de 4-30

mois. Recueilli dans des vases stérilisés, le lait en question se montra parfaitement pur, mais celui qui avait séjourné dans les seaux de bois dont se servait le propriétaire de la vache le contenait, et il fut, en effet, retrouvé sous forme d'un enduit rouge dans les fentes de ces récipients. Il fut aussi possible de constater sa présence dans la terre de l'écurie. Une désinfection énergique de l'étable et des récipients servant à la traite le firent disparaître et dès lors le lait en question put être consommé sans aucun dommage pour les enfants.

Cette levure rouge fut également retrouvée dans les déjections des petits malades et il y avait lieu de se demander si ce n'est pas elle qui avait été la cause des symptômes catarrhaux observés chez ces enfants. M. le professeur Demme incline à le croire, car il réussit à produire chez de très jeunes chiens des symptômes tout à fait analogues en leur faisant ingérer de fortes quantités de cultures pures du *saccharomyces ruber*. Il lui paraît probable que ce microorganisme agirait dans ce cas plutôt mécaniquement et à titre d'élément indigeste.

Le seul microorganisme avec lequel le *saccharomyces ruber* pourrait être confondu est la levure rose. Cependant les différences sont assez marquées pour qu'on puisse les distinguer. Ainsi, les cultures sur gélatine du *Saccharomyces ruber* sont en tête de clou, celles de la levure rose présentent à leur partie centrale un enfoncement. Le pigment du *Saccharomyces ruber* est rouge framboise, celui de la levure rose rouge tuile. En outre, le premier liquéfie la gélatine au bout de 8-10 mois, ce que la levure rose ne fait jamais.

E. F.

A. Lustig. — **Un bacille rouge de l'eau de rivière** (*Centralbl. für Bakteriol. u. Parasitenk.*, VIII, p. 33).

M. Lustig décrit, dans son mémoire, un bacille chromogène rouge, qu'il a trouvé dans l'eau d'une rivière de la vallée d'Aoste, dont voici les caractères principaux :

Sur les plaques de gélatine (8 0/0) on voit à l'œil nu, au bout de 48 heures, les colonies superficielles sous forme de points gris, ronds, dans le milieu desquels se trouve une substance rouge. Au faible grossissement les contours sont légèrement dentelés ; la surface est granuleuse, jaune, rouge et contient en outre un petit tas de matière colorante nuance framboise. En moins de 3 jours, la colonie s'étend, les bords deviennent irréguliers, la production de matière rouge gagne la périphérie, la gélatine s'amollit et la colonie tombe au fond de l'entonnoir. Les colonies situées dans la profondeur sont constituées après 48 heures par des points gris,

ronds, à contours réguliers, à surface granuleuse, de nuance jaune rose. Dans leur centre apparaît la matière colorante rouge. La gélatine est liquéfiée en 4-6 jours et transformée en une masse visqueuse, dénuée d'odeur particulière. Dans les cultures par piqûre, il se forme après 24 heures un entonnoir, rempli d'une masse grisâtre, dans le centre de laquelle se trouve suspendue la substance colorante rouge framboise. Après 4-6 jours, l'entonnoir gagne les bords et est entièrement rempli de la matière rouge. Celle-ci se montre à ce moment aussi le long de la piqûre. Au bout de 2-3 semaines la gélatine est changée tout entière en une substance visqueuse d'un rouge foncé. Souvent l'on aperçoit des bulles de gaz le long de la piqûre quand la gélatine n'est pas encore liquéfiée. Les cultures tenues dans l'obscurité croissent lentement mais produisent encore leur pigment. Celui-ci se montre également dans de la gélatine acidifiée.

Sur gélose, tenue à la température de la chambre, le pigment rouge se développe en 46 heures le long de la strie d'inoculation et envahit pendant les jours suivants toute la surface. A 37-40° les cultures restent d'un blanc laiteux et ne donnent pas de pigment.

Sur pomme de terre, à la température de la chambre, ce microorganisme se développe rapidement et y forme un gazon rouge, visqueux qui, après 2-3 semaines, a la couleur de la fuchsine desséchée. A l'étuve, les cultures restent grisâtres, avec quelques points un peu plus foncés.

Sur sérum de sang, on voit une végétation d'un blanc sale après 24 heures. Au bout de 48 heures, le sérum se liquéfie un peu et produit une matière colorante rose rouge.

Le bouillon est rapidement troublé et coloré. La coloration manque toutefois à la température de l'étuve.

Dans le lait stérilisé tenu à la température de la chambre, le pigment se forme à la surface du liquide. La caséine est précipitée pendant les premières 48 heures.

Dans l'eau distillée stérilisée il n'y a aucun développement, mais après 35 jours, ce microorganisme y est encore vivant.

Chauffées 8 heures à 60°, les cultures restent en vie, mais ne commencent à croître qu'au bout de 3 jours.

Les cultures croissent également avec production du pigment rouge à l'abri de l'air.

Ce microorganisme est un bacille mince, à bouts arrondis, généralement 2-4 fois aussi long que large. Dans une culture de 24 heures sur gélatine, sa largeur dans une goutte pendante, est de 1,8-3,0 μ. Ils sont isolés ou réunis par 2 et 4 et aussi en filaments. Aux pôles et dans l'intérieur du protoplasme, on voit des grains de pigment rouge foncé. Mais à ce moment tous les individus ne sont pas encore pigmentés. Ils sont mobiles, mais perdent leur mobilité à mesure qu'ils se chargent davantage de pigment.

Les cultures sur gélose contiennent des filaments de 13-20 individus, tous pigmentés. On trouve aussi des bacilles non pigmentés, brillants et très réfringents. Les cultures dans le bouillon donnent aussi de longs filaments. Les couleurs d'aniline les colorent bien; avec le procédé de Gram quelques bacilles seulement restent faiblement colorés. Dans l'eau distillée stérilisée on voit beaucoup de bacilles à protoplasme homogène et réfringent. Les grains pigmentés sont suspendus dans l'eau. Le bacille résiste pendant plusieurs mois à la dessication. On ne voit pas de spores endogènes, mais, d'après M. Lustig, les formes bacillaires à protoplasme réfringent déjà mentionnées rempliraient la fonction d'arthrospores.

M. Lustig a aussi étudié les propriétés chimiques de son microbe. Il en résulte qu'il ne possède pas de qualités nitrifiantes. Il ne forme point non plus d'ammoniaque dans les dissolutions de nitrates. La matière colorante est insoluble dans l'eau, mais soluble dans l'acide acétique, l'alcool, la benzine, l'éther, le chloroforme et le sulfure de carbone.

Ce bacille chromogène n'est identique ni avec le bacille rouge d'Eisenberg qui ne croît pas en l'absence d'oxygène et possède des spores rondes, ni avec le Bacille de Frank (Flügge, *Les microorganismes*), qui a des spores endogènes, ni avec celui de Fraenkel (*Grundriss der Bakterienkunde*, 2e éd., p. 87) qui forme un pigment jaune-rouge, ni avec le *Bacterium rosaceum* métalloïde de Dowdeswell, ou le *Bacillus miniaceus* de Zimmermann qui sont tous les deux immobiles, ne donnent pas de pigment quand ils sont privés d'air et qui liquéfient la gélatine en 3-5 semaines. E. F.

E. Klein. — Nouvelle contribution à l'étiologie de la diphtérie (*Centralbl. für Bakteriol. u. Parasitenk.*, VII, p. 786).

On a fréquemment observé en Angleterre, des épidémies de diphtérie dans lesquelles le virus paraît avoir été transmis par le lait, bien qu'il fût constaté que celui-ci n'avait pas été souillé par des produits diphtéritiques humains (épidémie dans le nord de Londres en 1878; épidémie de 1886 à York Town et Camberley; épidémie d'Enfield en 1888 et de Barking également en 1888). Dans l'une de ces épidémies on avait aussi constaté avec certitude la présence d'une éruption siégeant aux mamelles et aux pis des vaches.

Ces faits ont engagé M. Klein à essayer sur des vaches l'action du virus diphtérique. Deux vaches reçurent chacune 1 centimètre cube d'une culture de bouillon du bacille diphtéritique dans le tissu sous-cutané de l'épaule gauche. Le second et le 3e jour la température des animaux monta d'un degré et ces derniers mangèrent moins que d'habitude, jusqu'au 4e jour. Le second jour il se forma au

point d'inoculation une tumeur molle et douloureuse qui atteignit la grosseur du poing vers le 8-10e jour. Pendant la seconde semaine les vaches commencèrent à tousser. La première mourut le 15e jour, la seconde cessa de manger le 28e et se mit à dépérir en présentant les mêmes symptômes que la première. On la tua le 25e jour. En outre les deux avaient présenté une éruption pustuliforme siégeant aux mamelles. A l'autopsie on trouva les poumons très hyperémiés et les bronches entourées d'un exsudat grisâtre. Les glandes bronchiques étaient augmentées de volume. L'examen microscopique de la tumeur, dont on obtint des cultures pures du bacille de la diphtérie, montra une grande analogie avec les membranes diphtéritiques. Mais le point le plus intéressant est que le 5e jour, jour auquel l'éruption de la mamelle s'était produite chez la vache n° 2, son lait contenait le bacille diphtérique à l'état de pureté. Quelques centimètres cubes recueillis avec les précautions nécessaires d'un des pis sains servirent à faire des cultures sur gélatine. Pour cela 1/15 de centimètre cube de lait fut étendu sur de la gélatine solidifiée sur un plan incliné dans 4 tubes à essais.

L'un des tubes resta stérile, 2 deux donnèrent chacun 3 et le 4e 2 colonies du bacille diphtéritique, aucun autre microbe. Ceci ferait 32 bacilles par centimètre cube. Le 10e et le 11e, de même que le 25e jour, le lait de cette vache ne contenait plus le bacille, mais en revanche des colonies d'un micrococcus probablement identique avec le *Staph. albus*. La première vache ne paraît malheureusement pas avoir été examinée à ce point de vue. Par contre M. Klein retrouva constamment les bacilles dans les pustules des deux vaches, ce qui montre qu'ils avaient passé dans le torrent circulatoire. Les cultures du suc pulmonaire, des reins et du sang du cœur restèrent stériles. La contagiosité de la maladie fut prouvée par le résultat positif de l'inoculation de la lymphe des pustules à des veaux.

E. F.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de ville), *Juin* 1890

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
			TEMPÉRAT.	PLUIE —	VENT			
	BACTÉRIES	MOISISSURES	moyenne	Hauteur en millimèt.	Direction moyenne	Force moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 23 du 1er Juin au 7 Juin 1890 . .	6.830	1.170	14° 8	5mm,7	SW	14km 2	197	107
N° 24 du 8 » au 14 » » . .	6.170	835	14 ,8	17 ,7	W	12 9	186	108
N° 25 du 15 » au 21 » » . .	13.500	1.000	16 ,0	1 ,0	SW	10 0	188	103
N° 26 du 22 » au 28 » » . .	16.000	2.830	18 ,6	5 ,7	W	10 3	191	97
» » » . .	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	10.630	1.460	16°,0	30mm,1	W	11km 8	762	415
ANNÉE MOYENNE	4.520	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques*, sont comprises: les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Collecteur du Boulevard Sébastopol*)

Juin 1890. Bactéries = 5.500 Moisissures = 33.000 Température = 14°,9

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Juin 1890. Bactéries = 245 Moisissures = 240 Température = 16°,0

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Juin* 1890

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Juin 1890	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	735	705	»	Canalis. = 4.900 bactéries
» de la Dhuis à Ménilmontant.	350	1.890	»	Canalis. = (200) »
» » »	»	»	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint Maur.	17.000	28.650	18°,1	»
» de la Seine à Ivry	26 000	27.340	18°,0	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz . . .	58.000	31.060	»	Hauteur = 1m,00
» de la Seine au pont de l'Alma	125.000	77.525	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	8.500	36.190	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Eau du puits de la Maison départ. de Nanterre .	291	»	»	»
» du puits Retrou à Gennevilliers	33 000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Eau du drain de Saint-Maur	1.700	2.110	»	»
» de la Garenne.	48.000	2.160	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	19.000.000	13.315.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est	»	19.440.000	»	»
» » traitée à Bondy.	2.000	74.250	»	»

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de ville), *Juillet* 1890

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
			TEMPÉRAT.	PLUIE —	VENT			
	BACTÉRIES	MOISISSURES	moyenne	Hauteur en millimèt.	Direction moyenne	Force moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 27 du 29 Juin au 5 Juillet 1890 . .	8.800	3.800	14° 0	11mm,8	SW	17km 6	177	90
N° 28 du 6 Juillet au 12 » » . .	5.330	2.660	15 ,4	30 ,0	W	14 6	165	91
N° 29 du 13 » au 19 » » . .	12.000	5.400	19 ,0	33 .9	Var.	13 6	200	95
N° 30 du 20 » au 26 » » . .	8.500	3.600	16 ,4	0 .0	NW	14 4	173	87
N° 31 du 27 » au 2 Août » . .	21.000	4.500	19 ,6	11 ,0	SW	9 4	179	95
MOYENNES ET TOTAUX	11.130	3.990	16°,8	86mm, 7	W	13km 9	894	458
ANNÉE MOYENNE	4.520	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques*, sont comprises: les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Carrefour Turbigo*)

Juillet 1890. Bactéries = 6.250 Moisissures = 12.000 Température = 15°2

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Juillet 1890. Bactéries = 242 Moisissures = 282 Température = 16°8

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Juillet* 1890

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Juillet 1890	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	1.925	705	»	Canalis. = 4.000 bactéries
» de la Dhuis à Menilmontant.	1,650	1.890	»	Canalis. = 5.000 »
» » »	»	»	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint Maur.	24.250	36.190	18°,9	»
» de la Seine à Ivry	36.500	27.340	18°,8	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz . . .	48.000	31.060	»	Hauteur = 1^{m},05
» de la Seine au pont de l'Alma	124.000	77.525	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	17.000	36.190	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Eau du puits de la Gare d'Argenteuil	44.000	»	»	»
» du puits Princesse à Paris	48.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Eau du drain de Saint-Maur	800	2.110	»	»
» d'Epinay à Gennevilliers . . .	9.000	»	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	18.500.000	13.315.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est	5.500.000	19.440.000	»	»
» » traitée à Bondy.	2.000	74.250	»	»

BIBLIOGRAPHIE

E. Klein. — **Les bactéries dans le choléra asiatique** (Macmillan and C°, London, 1889).

Sous ce titre M. Klein reproduit dans un volume de 179 pages une série d'articles qu'il a publiés précédemment dans le *Practitioner* d'octobre 1886 à mai 1887, en y joignant tout ce que des recherches récentes ont ajouté à nos connaissances sur ce sujet, M Klein, on le sait, n'admet pas la spécificité du bacille-virgule comme agent cholérigène. On peut être d'avis différent, mais chacun rendra hommage à l'impartialité avec laquelle l'auteur discute les arguments de ses adversaires ainsi qu'à la logique de ses raisonnements. Dans tous les cas on ne saurait nier la valeur d'un grand nombre des faits avancés par M. Klein. Même après l'avoir lu on pourra, il est vrai, rester convaincu que le bacille-virgule est l'agent cholérique, mais on sera forcé de convenir que ce n'est là qu'une hypothèse, possible ou même probable, mais on cessera d'y attacher le caractère d'un dogme que bien des travaux récents sont portés à lui attribuer. Or, en matière scientifique, le dogme qui entraîne l'intolérance pour les idées contraires, n'a pas de place ; la science ne connaît que des faits ; quand ils sont tels qu'ils fournissent une preuve on a une loi, quand ils ne fournissent qu'une probabilité plus ou moins grande, nous ne pouvons qu'émettre une hypothèse.

Résumer en quelques lignes un ouvrage si considérable n'est guère faisable, et nous devons nous borner à en esquisser les grandes lignes.

La théorie de M. Koch et de son école repose sur deux ordres de faits : 1° la présence constante des bacilles-virgules dans les cas de choléra, qui seraient d'autant plus nombreux que le cas est plus typique ; et 2° sur les résultats de l'inoculation aux animaux qui, quand on a recours à certains artifices (alcalinisation du contenu stomacal et injection intrapéritonéale de teinture d'opium pour empêcher les mouvements péristaltiques de l'intestin et favoriser le développement des bacilles-virgules). A ceci se rattacherait encore l'infection fortuite d'un étudiant dans le laboratoire de M. Koch,

lequel, à une époque où aucun cas de choléra ne s'était produit à Berlin, eut une attaque de cholérine avec symptômes cholériformes accompagnée de présence de nombreux bacilles-virgules dans les déjections.

M. Klein admet bien la présence constante du bacille-virgule dans le choléra et reconnaît, disons-le de suite, toute son importance au point de vue du diagnostic : mais il conteste, en s'appuyant sur les nombreuses autopsies qu'il a pratiquées, qu'il soit plus nombreux dans les cas aigus et foudroyants ; dans certains de ces cas, il aurait, au contraire, eu de la peine à les trouver. En outre M. Klein conteste qu'on les trouve d'une façon régulière dans le tissu intestinal. Selon lui ils ne pénétreraient dans ce dernier que quand il a eu le temps de se désorganiser entre le stade de l'agonie et celui de la mort. Quant aux expériences sur les animaux, M. Klein conteste leur valeur en raison des lésions anormales que l'on produit par les artifices dont il a été parlé. Le bacille-virgule introduit dans cet intestin modifié y trouverait alors un terrain favorable pour sa multiplication et pour la production de ses toxines délétères, car M. Klein ne nie pas qu'il secrète comme nombre d'autres microbes des substances nuisibles. A cet égard une observation de M. G.-F. Dowdeswell mérite de trouver place ici. Cet expérimentateur a noté chez les cobayes inoculés avec le bacille-virgule une élévation de température, tandis qu'on constate, au contraire, dans les cas de choléra l'abaissement de la température dès le début de la maladie. Selon M. Dowdeswell ce fait indiquerait que la maladie conférée aux cobayes par l'inoculation du bacille-virgule rentrerait dans le cadre des septicémies que caractérise l'élévation de la température et qu'elle ne serait pas de nature cholérique. Quant à l'infection fortuite de l'étudiant du laboratoire de M. Koch, M. Klein pense qu'elle peut s'expliquer d'une manière analogue. Le bacille ingéré accidentellement se serait simplement reproduit, dans l'intestin modifié par une diarrhée antérieure, mais n'aurait pas été l'agent primaire.

Pour expliquer la présence constante du bacille-virgule dans le choléra, tout en niant qu'il en soit la cause, il faut admettre qu'il se trouve à l'état normal dans l'intestin, en très petit nombre, il est vrai, et que, le choléra se déclarant, il trouve surtout dans les mucosités et dans les selles rhiziformes, un terrain favorable, Or, jusqu'ici on ne l'a jamais trouvé dans un intestin normal ou atteint d'une autre infection que le choléra ; M. Klein dit que cela tient à son petit nombre et qu'il n'est pas étonnant que la grande quantité de bactéries vulgaires qui se trouvent dans l'intestin empêche qu'on le retrouve sur les plaques de gélatine. C'est là, à notre avis, le point faible de l'argumentation de l'auteur, car on les a tellement cherchés qu'il semble qu'on aurait dû les y trouver s'ils y étaient normalement. Or, tant que ceci n'aura pas été fait et cela d'une

manière indiscutable, la théorie de la non-spécificité du bacille-virgule ne restera, elle aussi, qu'une hypothèse.

Un point important est celui de la question de la fréquence du bacille-virgule dans les cas aigus et vraiment typiques. Ici MM. Koch et Klein se contredisent formellement. C'est donc un point que des expérimentateurs futurs auront à cœur de fixer d'une manière certaine.

Nous regrettons de ne pouvoir dans cette courte analyse suivre tous les développements de l'argumentation de M. Klein, mais cela dépasserait les bornes d'une simple notice bibliographique. Disons seulement encore que l'ouvrage de M. Klein traite à fond de la morphologie du bacille-virgule ainsi que de celles des autres bacilles-virgules lui ressemblant. Il donne également la description d'un bacille particulier qu'il a trouvé dans tous les cas de choléra, mais dont le rôle dans la production du choléra ne saurait être, ainsi qu'il le dit lui-même, qu'hypothétique pour les mêmes motifs qu'il invoque contre le bacille-virgule. Bref, le livre de M. Klein est de ceux qui valent la peine d'être lus et médités et le but de ces lignes est simplement d'attirer l'attention de nos lecteurs sur cet intéressant ouvrage. E. F.

PUBLICATIONS RÉCENTES

PROTOPHYTES ET PROTOZOAIRES

Gruber. — Die conjugation der Infusorien (*Biol. Centralblatt*, Bd. X, n° 5, und 6, 1898.

Pouchet (G.).— Contribution à l'histoire des Noctiluques (*Journ. de l'Anatomie*, t. XXVI, n° 2, pp. 104-125, pl. IV).

Erlanger (G.). — Zur Kenntniss einiger Infusorien (*Zeitschr. fur Wiss. Zool.*, Bd. XLIX, Heft. 4, pp. 649-622, t. XXIX).

Osler (W.). — Ueber die in Dysenterie und Dysenterischen Leberabscess forhandene Amœba. Sur les amibes qui se trouvent dans la dysenterie et dans les abcès dysentériques du foie (*Centralblatt fur Bacteriologie*, VII, Bd. n° 23, p. 736).

G. de Lagerheim. — Sur un nouveau parasite dangereux de la Vigne, *Uredo Vialæ* (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CX, page 728).

A. Rommier. — Sur le bouquet des vins et des eaux-de-vie (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CX, p. 1039).

G. Jacquemin. — Le bouquet des boissons fermentées (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CX, p. 1140).

A. Rommier. — Sur la préparation des levures de vin (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CX, p. 1341).

E. Kayser. — Étude sur la fermentation du cidre (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 321).

E. Kayser. — Contribution à l'étude des malts de brasserie (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 484).

W.-M. Hafkine. — Recherches sur l'adaption au milieu chez les infusoires et les bactéries (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 363).

V. Danilewski. — Développement des parasites malariques dans le sang des oiseaux (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IX, p. 427).

V. Danilewski. — Contribution à l'étude des phagocytes (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 432).

Gabritchewsky. — Contribution à l'étude de la parasitologie du sang (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 442).

BACTÉRIOLOGIE

L. Vaillard et Vincent. — Sur une pseudo pelade de nature microbienne (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 448).

N. Gamaleïa. — Sur l'action diarrhéique des cultures du choléra (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CX, p. 667).

Cassedebat. — Sur un bacille pseudotyphique trouvé dans les eaux de rivière. (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CX, p. 798).

V. Babès. — Sur les microbes de l'hémoglobinurie du bœuf (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CX, p. 800 et 975).

S. Arloing. — Remarques sur la perte de la virulence dans les cultures du *Bacillus anthracis* et sur l'insuffisance de l'inoculation comme moyen de l'apprécier (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CX, p. 939).

Ch. Bouchard. — Action des produits sécrétés par les microbes pathogènes, 1 vol. in-4, Gauthier-Villars et fils, Paris, 1890.

Œchsner de Coninck. — Contribution à l'étude des ptomaïnes (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CX, p. 1339).

Elie Metchnikoff. — Etudes sur l'immunité (3e mémoire) (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 193).

S. Winogradsky. — Recherches sur les organismes de la nitrification (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 213 et 257).

Kelsch et Vaillard. — Tumeurs lymphadémiques multiples avec leucémie (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 276).

N. Tchiotovitch. — Études sur la pneumonie fibrineuse (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 285).

Lannelongue et Achard. — Étude microbiologique de dix Kystes congénitaux (*Annales de l'Institut Pasteur*), t. IV, p. 293).

E. Roux et Yersin. — Recherches sur la diphtérie (3e mémoire) (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 385).

E. Laurent. — Étude sur la variabilité du bacille rouge de Kiel (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 465).

Dr Schaffer. — Sur un cas atypique de rage humaine (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 513).

Dr Malm. — Sur la virulence de la bactéridie charbonneuse après son passage chez le chien et chez le lapin vacciné (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 520).

N. Pane. — Sull'azione antisettica dell' acqua ossigenata e sull' influenza della temperatura nella disinfezione. Sur l'action antiseptique de l'eau oxygénée et sur l'influence de la température dans la désinfection (*Bullettino della Reale Accademia medica di Roma*, XXI, 1, p. 61).

Buchner. — Ueber die Ursache der Sporenbildung beim Milzbrandbacillus. Sur la cause de la formation des spores chez la bactéridie charbonneuse (*Centralbl. für Bakteriol. u. Parasitenkunde*, VIII, p. 1).

Dr Egbert Braatz. — Baumwollenfäden anstatt Seidenfäden bei bakteriol. Versuchen. De l'emploi de fils de coton au lieu de fils de soie dans les expériences bactériologiques (*Centralbl. für Bakteriol. u. Parasitenk.*, VIII, p. 8).

M. Fuchs. — Ein anaërober Eiterungserreger. Un agent pyogène anaérobie (Thèse, *Greifswald*, 1890).

TABLE DE MATIÈRES [1]

A

Acide lactique (Sur la virulence de quelques bactéries productrices de l')..... 444
Action désinfectante de la vapeur surchauffée employée sans pression... 339
Agents pyogènes (Contribution statistique à la connaissance des) chez l'homme et chez les animaux... 391
Algues (Mémoire sur les)..... 73
ALI COHEN. — Du mouvement chez les micrococcus 81
* Antagonisme des bactéries..... 1
* Appareils de micrographie à l'Exposition universelle de 1889.... 66
ARLOING (S.). — Sur l'étude bactériologique des lésions de la péripneumonie contagieuse du bœuf..... 77

B

Bacille à capsule (Sur un nouveau). 337
Bacille diphtérique (Recherches expérimentales sur le)..... 341
* Bacille du choléra dans le sol... 222
Bacille rouge (Un) de l'eau de rivière..... 556
Bacilles du typhus et du choléra (Sur la durée de la vitalité des) dans les matières fécales..... 187
Bacille du typhus (Sur la manière dont se comporte le) dans les déjections typhiques..... 81
Bacille typhique dans les eaux potables de Coïmbra..... 295
Bacille typhique (Sur la manière dont se comporte le) dans les eaux de puits 174
Bacille typhique (De l'isolement du) dans l'eau 432
Bacille typhique (Expérience sur la recherche du)..... 342
* Bacille typhique (Sur un nouveau procédé d'isolement du) dans l'eau..... 334
Bacille typhique (Sur les prétendues spores du)..... 184
Bacillo coma (Estrana évolucion del)..... 44
Bactéridie charbonneuse asporogène 295
* Bactéries (Antagonisme des)..... 1
Bactéries dans le duodénum de l'homme..... 85
Bactéries du choléra (Résistance des) à la dessiccation et à la chaleur..... 358
* Bactéries produisant le boursouflement des fromages..... 353

(1) Les articles précédés d'un astérisque ont fait l'objet d'un travail original publié dans les *Annales de Micrographie*.

39112

Bacterium phosphorescens Fisch. (Étude sur le)..... 383
* BALBIANI. — Étude sur le Loxode. 401
» Sur la structure intime du noyau du *Loxophyllum meleagris*..... 380
BAUMGARTEN. — Rapport annuel sur les progrès dans l'étude des microorganismes pathogènes.....253, 524
BESELIN. — Du désinfectol et de son action désinfectante sur les matières fécales..... 344
Beurre naturel considéré comme moyen de transmission de la tuberculose..... 387
Bibliographie 43, 90, 189, 252, 300, 348, 396, 524 et 564
* Blanchiment des murs au lait de chaux (Sur l'action désinfectante du)..... 305
Blennorrhagie aigue (Du traitement de la) par les injections..... 551
BONNET. — Précis d'analyse microscopique des denrées alimentaires..... 396
* BOVET. V. — De l'antiseptie des matériaux de construction.... 97
* » Des gaz produits par la fermentation anaërobienne..... 322
BROEMER. — Un nouveau réactif histochimique des tannins ... 137
BRANDT. — Note à propos de ses dernières recherches sur les Radiolaires..... 287
BUCHNER. — Sur l'action bactéricide du sérum du sang privé de cellules..... 511
» Sur les prétendues spores du bacille typhique..... 184
Bulletins d'analyse micrographique 346, 391, 446, 522, 560 et 562
BUTSCHLI. — Protozoa..... 90

C

CADEAC. — Contribution à l'étude de la pleuropneumonie contagieuse du cheval..... 186
Café (Action des infusions de) sur les bactéries..... 179
CAMARA, MELLO CABRAL DA ROCHA. — Recherche du bacille typhique dans les eaux potables de Coïmbra..... 295
Cap Horn (Protozoaires du)..... 70
Carcinome de Scheurlen (Recherches sur la présence de microorganismes dans les tumeurs et sur le bacille du)... 506
Carcinomes (Sur les organismes parasitaires spéciaux dans les cellules épithéliales des)..... 445
CERTES (A). — Sur les microorganismes de la panse des ruminants..... 71
» Mission scientifique du Cap Horn, Protozoaires..... 70
» Sur un spirille géant développé dans les cultures des sédiments d'eau douce d'Aden 137, 290
Ciliés holotriches (Contribution à l'étude des)..... 288
Ciliés (Rajeunissement karyogamique des)..... 134
Chancre (Recherches expérimentales sur la matière infectieuse du) (et sur les bubons)..... 387
CHAUVEAU (A). — Sur le transformisme en microbiologie 138
Chaux chlorée (Sur l'action désinfectante de la)..... 382
Choléra asiatique (Les bactéries dans le)..... 564
Choléra asiatique (Sur les flagella des bacilles du)..... 297
* Choléra (Sur quelques phases du développement du microbe du)..... 529
* Choléra (Note sur les flagella du microbe du)..... 377
CLAESSEN. — Sur un bacille de l'eau produisant une matière bleue d'indigo..... 550
* Coccidies (Sur deux nouvelles) parasites de l'Épinoche et de la Sardine..... 475
Conchophtirius (Le genre)..... 287
* CORNET. — De la dissémination des bacilles de la tuberculose en dehors de l'organisme..... 159
COURMONT. — Sur une nouvelle tuberculose bacillaire d'origine bovine..... 36
Créosol. (Les propriétés désinfectantes du)..... 510
CUNINGHAM-DOUGLAS. — Les bacilles virgule sont-ils vraiment la cause de la diffusion épidémique du choléra, même en admettant qu'ils soient la cause première des symptômes du choléra?..... 144

D

DANGEARD (P.-A.). — Contribution à l'étude des organismes inférieurs 438
» Mémoire sur les Algues..... 37
DEMME. — Sur la présence d'une levure rouge dans le lait et dans le fromage et sur la production de catarrhes intestinaux chez les enfants en bas âge ayant bu, crû ou mal cuit du lait infecté par ce microorganisme 555
Desinfectol (Du) et de son action désinfectante sur les matières fécales. 344
Désinfection (Sur la) des wagons ayant servi à transporter des bestiaux sur la voie ferrée... 290
Desmidiées (Liste des) des Massachussets..... 34
Diatomées (Les) 43
Diphtérie (Contribution à l'étiologie de la)..... 548
Diphtérie (Nouvelle contribution à l'étiologie de la)..... 558
Dissémination des bacilles de la tuberculose en dehors de l'organisme 159
DOMINGUEZ. — Estrana evolucion del bacillo coma 44
* DOWDESWELL. — Note sur les flagella du microbe du choléra..... 377
* DOWDESWELL. — Sur quelques phases du développement du microbe du choléra 529
DUCLAUX. — Sur la conservation des levures..... 140
DUCREY. — Recherches expérimentales sur la matière infectieuse du chancre et sur les bubons..... 387
Dumontia libera 284

E

* Eau salée (La stérilisation à l') et son emploi en chirurgie..... 545
Eau potable de Christiania (Examen bactériologique de l')..... 554
Eau potable (Sur la manière dont se comportent quelques bactéries pathogènes dans l')..... 173
* Epithelioma pavimenteux (Sur la présence d'éléments semblables aux Psorospermies dans l')... 485
ESMARCH. — De l'action désinfectante de la vapeur surchauffée employée sans pression.. 339
ESCHERICH. — Contribution à l'étiologie de la diphterie.... 000
ESPINE (A. d') et DE MARIGNAC. — Recherches expérimentales sur le bacille diphtéritique... 341

F

* FABRE DOMERGUE. — Sur un nouveau modèle de microscope. 164
Fermentation alcoolique des miels. 76
* Fermentation ammoniacale (Étude sur la) et sur les ferments de l'urée. 13, 53, 122, 145, 367. 488
* Fermentation anaërobienne (Des gaz produits par la) 322
Ferments dissolvant la gélatine et la fibrine et les diastases produits par les microorganismes. 293
FERMI CLAUDIO. — Les ferments dissolvants, la gélatine et la fibrine et les diastases produits par les microorganismes 293
Flagellés (Recherches sur la morphologie des)..... 284
FODOR (J.). — Nouvelles recherches sur l'action bactéricide du sang et sur l'immunisation. . 518
FRÆNKEL. — Les propriétés désinfectantes du créosol. Contribution à l'étude de la désinfection..... 510
* FREUDENREICH (E. DE). — De l'antagonisme des bactéries.. 1
* » De la teneur du lait en bactéries 116
* » Recherches préliminaires sur le rôle des bactéries dans la maturation du fromage de l'Emmenthal.....
* » Sur quelques bactéries produisant le boursouflement des fromages..... 353
FRIEDHEIM. — Du traitement de la blennorragie aiguë par les injections..... 551
Fromage (Bactéries du) 257,353

G

GASPERINI. — Le beurre naturel considéré comme moyen de transmission de la tuberculose. 387
* » Recherches morphologiques et biologiques sur un microorganisme de l'atmosphère, le *Streptothrix Foersteri* Cohn. 449
GASTINE. — Sur la fermentation alcoolique des miels et la préparation de l'hydromel..... 76
* Gaz produits par la fermentation anaërobienne..... 322
GESSNER. — Sur les bactéries dans le duodénum de l'homme. 85
GIARD — Sur l'infection phosphorescente des talitres et autres crustacés..... 72
* GIAXA (V. DE). Le bacille du choléra dans le sol..... 22
* » Sur l'action désinfectante des blanchiments des murs au lait de chaux..... 305
» Sur la manière dont quelques organismes pathogènes se comportent dans l'eau de mer... 86
GROTENFELT GOESTA. — Sur la virulence de quelques bactéries productrices de l'acide lactique..... 444
» Études sur la décomposition du lait..... 442
Grouse (Maladie infectieuse aiguë de la)..... 79

H

* HANSEN (E.-Ch.). — Sur la production de variétés chez les Saccharomyces..... 214
HERTWIG RICHARD. Sur la conjugaison des infusoires..... 381
HOLTZ MAX.— Expériences sur la recherche du bacille typhique. 342
Hydromel (Sur la fermentation alcoolique du miel et sur la préparation de l')..... 76

I

Immunité accidentelle causée par les substances médicamenteuses..... 182
Immunité acquise (Recherches sur les causes de l')..... 291
Immunité (Contribution à l'étude de l')..... 389
Indol (La réaction négative de l') des bacilles du typhus comparée à celles d'autres bacilles analogues..... 391
Infection phosphorescente des Talitres..... 72
Infusoires (Sur la conjugaison des). 381
* Isolement (Sur un nouveau procédé d') du bacille typhique dans l'eau..... 334
ISSEL (A.). — Radiolaires fossiles contenus dans les cristaux d'Albite..... 290

J

JORGENSEN. — Die mikroorganismen der garungs industrie. 252

K

KARLINSKI (J.). — Contribution statistique à la connaissance des agents pyogènes chez l'homme et chez les animaux. 391
» De la manière dont le bacille typhique se comporte dans l'eau de puits..... 174
» Recherches sur la manière dont se comporte le bacille du typhus dans les déjections typhiques..... 81
» Sur la manière dont se comportent quelques bactéries pathogènes dans l'eau potable.. 173
KITASATO (S.). — De la résistance des bactéries du choléra à la dessication et à la chaleur..... 385
» La réaction négative de l'indol des bacilles du typhus com-

parée à celles d'autres bacilles analogues..... 391
» Sur le bacille du tétanos..... 507
* KLEIN. — Sur la morphologie des streptococcus..... 49
» Sur une maladie épidémique des poules causée par un bacille..... 338
» Sur une maladie infectieuse aiguë de la grouse..... 79
» Nouvelle contribution à l'étiologie de la diphtérie..... 558
» Les bactéries dans le choléra asiatique..... 564
KUHNEMAN (Georges). — Recherches bactériologiques sur les verrues..... 41
KUNSTLER. — Recherches sur la morphologie des flagellés.... 284
» et de LUSTRAC. — Sur la *Dumontia libera* n. sp..... 284

L

Lait (Études sur les décompositions du)..... 424
Lait rouge (Sur le)..... 181
* Lait (Teneur du) en bactéries.... 116
LARUELLE. — Étude bactériologique sur les péritonites par perforation..... 78
LEHMANN. — Études sur le *Bacterium phosphorescens* Fisch. 383
LEO HANS. — Contribution à l'étude de l'immunité..... 389
Levain (Les organismes du) et leur rôle dans la fermentation panaire..... 41
Levure rouge dans le lait et dans le fromage, pouvant déterminer des catarrhes intestinaux chez les enfants..... 555
Levures (Sur la conservation des). 140
* LINOSSIER et ROUX. — Sur la morphologie et la biologie des champignons du Muguet..... 434
* Loxode (Étude sur le)..... 401
Loxophyllum meleagris (Sur la structure du noyau du)..... 380
LUCET. — Sur la nature infectieuse de la mammite chez la vache..... 89
LUDERITZ. — Quelques recherches au sujet de l'action des infusions de café sur les bactéries. 179
Lumière solaire (De l'action de la) sur les microorganismess.... 516
LUSTIG. — Un bacille rouge de l'eau de rivière..... 556

M

Maladie épidémique des poules causée par un bacille..... 338
MALLORY, RAFTER et LINE. — Sur le *Volvox globator* comme cause du goût de poisson et de l'odeur de l'eau du lac Hemlock en 1888..... 72
* Mammites (Sur la nature infectieuse des) chez la vache..... 80
MARX (Louis). — Le laboratoire du brasseur..... 189
* Matériaux de construction (De l'antisepsie des)..... 97
MATTEI (E. di). — Sur l'immunité artificielle provoquée par les substances médicamenteuses..... 182
» et EMMERICH. — Recherches sur les causes de l'immunité acquise..... 291
» et STAGNITTA. — Sur la manière de se comporter des microbes pathogènes dans l'eau courante..... 175
» et SCALA. — Sur l'action désinfectante de quelques sels de mercure..... 552
MAUPAS. — Rajeunissement Kariogamique chez les Ciliés... 134
MENDOZA. — Sur le mouvement propre des micrococcus..... 143
MENGE KARL. — Sur le lait rouge..... 181
Méningite cérébro-spinale (Contribution à l'étude de la)..... 188
Mercure (Sur l'action désinfectante de quelques sels de)... 222
Micrococcus (Du mouvement chez les)..... 81
» (Sur le mouvement propre des). 143
Microorganisme cause d'une affection des bovidés se distinguant du charbon bactéridique et du charbon symptomatique..... 40
Microorganismes de la panse des ruminants..... 71
Microorganismes pathogènes (Le sort des) dans le cadavre..... 37

* Micrographie (Appareils de) à l'Exposition universelle de 1889... 53
* MIQUEL. — Étude sur la fermentation ammoniacale et sur les ferments de l'urée 13, 53, 122, 145, 367, 488
MOUTI (A.). — Contribution à l'étude de la méningite cérébro-spinale..... 188
» De l'étiologie du rhumatisme articulaire aigu..... 445
» Influence des produits toxiques des saprophytes sur la restitution de la virulense aux microparasites atténués..... 143
* Muguet (Sur la morphologie et la biologie du champignon du).. 434
Musées bactériologiques (Directions pour la création de).... 141
* Myxosporidies (Contribution à l'étude des)..... 195
Myxosporodies (Sur la constitution des spores des)..... 172

N

NEUHAUSS. - Sur les flagella des bacilles du choléra asiatique.. 297
NISSEN. — Contribution à l'étude de l'action bactéricide du sang. 513
Sur l'action désinfectante de la chaux chlorée..... 388
Noctiluques (Du cytoplasme et du noyau chez les)..... 136

O

Olivier (Tumeur à bacilles de l').. 75
Ozone (De l'importance de l') comme désinfectant..... 343

P

PASTEUR. — Sur la méthode de prophylaxie de la rage..... 35
PAUSINI. — De l'action de la lumière solaire sur les microorganismes 516
PAULOWKY. — Contribution à l'étude de l'étiologie et des formes de la péritonite aiguë. 83
PEDRO DOM. — Vaccination contre la rage..... 139
PELLETAN Les diatomées.... 43
Peripneumonie contagieuse du bœuf..... 77
Péritonite aiguë (Contribution à l'étude de l'étiologie et des formes de la)..... 83
Péritonites par perforation (Étude bactériologique sur les)..... 79
PETERS (W.-L.). Les organismes du levain et leur rôle dans la fermentation panaire..... 41
PIANA GIAN PIETRO. — Observations et expériences sur un microorganisme, cause d'une affection des bovidés se distinguant du charbon bactéridique et du charbon symptomatique. 40
PIEFFER. — Sur un nouveau bacille à capsule..... 337
PIEFFER et NACHT. — Sur la manière dont se comporte le vibrion cholérique dans le corps du pigeon..... 182
PIEFFER. — Sur la pseudotuberculose bacillaire chez les rongeurs..... 175
PIETRO CANALIS. — Sur la désinfection des wagons ayant servi au transport des bestiaux sur les voies ferrées..... 290
Pleuropneumonie contagieuse du cheval..... 186
POUCHET. — Du cytoplasme et du noyau chez les noctiluques... 136
Poules (Sur une maladie épidémique des) causées par un bacille..... 338
PRILLIEUX. — Les tumeurs à bacilles des branches de l'Olivier et du Pin d'Alep..... 75
Publications récentes 44, 91, 190, 254, 301, 350, 397, 448, 524, 566.

R

Radiolaires fossiles contenus dans les cristaux d'Albite 290
Radiolaires (note à propos des).. 287
Rage (Sur la méthode de prophylaxie de la)..... 35
Rage (Vaccination contre la)..... 139
REIMERS JOHN. — Sur la teneur en germes du sol..... 183

Rhumatisme articulaire aigu (De l'étiologie du)..... 415
ROSENTHAL. — Recherches sur la présence des microorganismes dans les tumeurs et sur le bacille du carcinome de Scheurlen 506
ROSTER-GIORGIO. — Les bactéries de l'air de l'Ile d'Elbe... 441
ROUX (Dr E.). — Bactéridie charbonneuse asporogène..... 295
ROUX et NOCARD. — A quel moment le virus rabique apparaît-il dans la bave des animaux enragés?..... 505
Ruminants (Microorganismes de la panse des) 71

S

* Saccharomyces (Sur la production des variétés sur les)..... 214
SALOMONSEN. — Bactériological technology for physicians.... 301
Sang (Contribution à l'étude de l'action parasiticide du)..... 513
Sang (Nouvelles recherches sur l'action parasiticide du) et sur l'immunisation..... 518
Saprophytes (Influence des produits des) sur les microparasites atténués..... 143
SCHMELCK. — Examen bactériologique de l'eau potable de Christiania..... 800
SCHEWIAKOFF. — Contribution à l'étude des ciliés holotriches 288
SCHUBERG (Dr A.). — Le genre *Conchophtirius*..... 287
Sérum du sang (Sur l'action parasiticide du) privé de cellules. 511
Sol (Sur la teneur en germes du). 183
SOUNTAG (Dr Hermann). — De l'importance de l'ozone comme désinfectant..... 343
SOYKA et KRALL. — Direction pour la création de musées bactériologiques 141
Spirille géant des sédiments d'eau douce d'Aden..... 137
Stérilisation à l'eau salée et son emploi en chirurgie 545
* Streptocoques (Sur la morphologie des).....s..... 49
* *Streptothrix Fœrsteri*, Cohn.... 449

T

Talitres (Infection phosphorescente des)..... 72
Tannins (Un nouveau réactif histochimique des)..... 137
* TAVEL. — La stérilisation à l'eau salée et son emploi en chirurgie..... 545
Tétanos (Sur le bacille du)..... 507
* THÉLOHAN P. — Contribution à l'étude des Myxosporidies.... 195
* » Sur deux coccidies nouvelles parasites de l'Épinoche et de la Sardine 475
» Sur la constitution des spores des Myxosporidies..... 172
THOMA. — Sur des organismes parasitaires spéciaux dans les cellules épithéliales des Carcinomes..... 445
Transformisme (Sur le) en Bactériologie..... 138
Tuberculose bacillaire d'origine bovine 36
* Tuberculose (De la dissémination des bacilles de la) en dehors de l'organisme..... 159
Tuberculose pseudo-bacillaire chez les rongeurs.... 177
Tumeurs à bacilles des branches de l'Olivier et du Pin d'Alep . 75

U

UFFELMANN. — Sur la durée de la vitalité des bacilles du typhus et du choléra dans les matières fécales.... 187
* Urée (Étude sur la fermentation ammoniacale et sur les ferments de l')... 13, 53, 122, 145, 367, 488
Urobacillus Duclauxii.. 53, 122, 145
Urobacillus Freudenrischii. 467, 488
Urobacillus, Pasteurii..... 13

V

Vaccination contre la rage..... 139
Verrues (Recherches bactériologiques sur les)..... 41

Vibrion cholérique (Sur la manière dont se comporte le) dans le corps du pigeon..... 182
VILLAIN et BASCOU. — Manuel de l'Inspecteur des viandes.. 348
* VINCENT. — De l'isolement du bacille typhique dans l'eau.. 432
» Sur la présence d'éléments semblables aux Psorospermies dans l'Epithelioma pavimenteux 485
* » Sur un nouveau procédé d'isolement du bacille typhique dans l'eau 334
Virus rabique (A quel moment le) apparait-il dans la bave des animaux enragés ?..... 505
Volvox globator comme cause du goût de poisson et de l'odeur du lac Hemlach..... 72

W

WEST. — Liste des desmidiés des Massachussets U. S. A... 34

Z

ZUNE. — Traité de microscopie médicale et pharmaceutique. 90

L'Editeur-Gérant,
GEORGES CARRÉ.

Tours. — Imprimerie DESLIS FRÈRES